

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1957

THÈSE 283

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Paul, Gaston, René THIAUCOURT

Externe des Hôpitaux de Paris

Né le 20 Novembre 1928 à VILLENEUVE-AU-CHEMIN (Aube)

présentée et soutenue publiquement le

ESSAI DE MISE AU POINT
SUR LES ADENOVIRUS

Président : Monsieur FASQUELLE (Professeur)

D. P. TAIB

8, Rue Casimir - Delavigne
PARIS - VI^e

1957

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

--:-

Année 1957

N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Paul, Gaston, René THIAUCOURT

Externe des Hôpitaux de Paris

Né le 20 novembre 1928 à Villeneuve-au-Chemin
(Aube)

--:-

Présentée et soutenue publiquement
le

--:-

ESSAI DE MISE AU POINT

SUR LES ADENOVIRUS

--:-

Président : Monsieur FASQUELLE (Professeur)

--:-

D.P. TAIB
8, rue Casimir Delavigne
PARIS
1957.

DOYEN HONORAIRE :

M. BAUDOUIN

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BAUDOUIN, BENARD, CADENAT, CARNOT, CHABROL, CHAMPY, CHEVASSU, DELBET, DONZELOT, GASTINEL, GUILLAIN, HALPHEN, HARVIER, LAROCHE G LAUBRY, LEMAITRE, LEMIERRE, LEVY-SOLAL, LHERMITTE, LIAN, LOEPER, MARION, MATHIEU, MOCQUOT, MONDOR, MULON, OLIVIER E., OMBREDANNE, SANNIE, SEZARY, TANON.

DOYEN Léon BINET
Membre de l'Institut
ASSEESSEUR Jean VERNE

I.- PROFESSEURS

	MM
Anatomie	CORDIER
Anatomie pathologique	DELARUE
Bactériologie	FASQUELLE
Biologie appliquée à l'Educa- tion physique et aux Sports)	CHAILLET-BERT
Biologie Médicale	FAUVERT
Cancérologie médicale, sociale	BERNARD J.
Carcinologie	N.
Chimie Médicale	JAYLE
Cliniques Chirur.	{ Hôtel-Dieu
	{ Broussais
	{ Salpêtrière
	{ Cochin
Clinique chirurgicale répara- trice et orthopédique	{ MERLE d'AU- BIGNE
Clinique de Cardiologie	MOUQUIN
Clinique chirurgicale infan- tile et d'orthopédie	FEVRE
Clinique chir. pleuro-pulmon.	MONOD
Clinique de la Tuberculose	BERNARD E.
Clinique de neuro-chirurgie	{ PETIT- DUTAILLIS
Clinique de Puériculture	LELONG
Clinique des maladies cutanées) et syphilitiques	DEGOS
Clinique des maladies du sang	CHEVALLIER
Clinique des maladies du systè- me nerveux	ALAJOUANINE

Clinique des maladies des enf.	DEBRE
Clinique des maladies infect.	MOLLARET
Clinique des maladies mentales) et de l'encéphale	DELAY
Clinique du diabète sucré et des) maladies de la nutrition	BOULIN
Clinique Gynécologique	F. BRENTANO
	BARIETY
Cliniques Médicales	J. BESANÇON
	MOREAU
	de GENNES
Clinique méd. hydro-climat. thér.	DEBRAY
Clinique médicale propédeutique	PASTEUR V.-R.
	LANTUEJOUL
Cliniques obstétricales	VARANGOT
	LACOMME
Clinique ophtalmologique	VELTER
Clinique oto-rhino-laryngologique	AUBIN
Clinique psychiatrique infantile	HEUYER
Clinique rhumatologique	COSTE
Clinique stomatologique	DECHAUME
Clinique urologique	FEY
Embryologie	GIROUD
Génétique	LAMY
Histoire de la Méd. et de la Chir.	SOULIE
Histologie	VERNE
Hygiène et Clinique lère Enfance	CATHALA
Hygiène et Méd. Préventive	JOANNON
Médecine du Travail	DESOILLE
Médecine légale	PIEDELIEVRE
Parasitologie et hist. nat. méd.	GALLIARD
Pathologie chirurgicale	MENEGAUX
Pathologie exotique	LAVIER
Path. expérimentale et comparée	LENEGRE
Path. Hum. et Immun. exp.	MERKLEN
Pathologie médicale	DECOURT
Path. et Thérapeut. générales	GARCIN
Pédiatrie sociale	Julien MARIE
Pharmacologie et matière méd.	HAZARD
Physico-chimie méd. (ch. t. pers)	DOGNON
Physiologie	BINET
Physique médicale	STROHL
Problèmes alimentaires (c. t. pers)	RICHET
Radiologie médicale	DESGREZ
Technique chirurgicale	PATEL
Thérapeutique	TURPIN
Thérapeutique chirurgicale	SENEQUE
Thérapeutique médicale	LEMAIRE

II. - PROFESSEURS SANS CHAIRE MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES ET AGREGES

	MM.		MM.
	(CABROL		(DUBOST
	(DEBEYRE		(FAUREL
Anatomie.....	(DELMAS		(FLABEAU
	(OLIVIER G.		(GERMAIN
	Melle GAU-		(GOSSET
Ana. Path.....	THIER V.	Pat. Chir.	(LAURENCE
	BUSSER		(LORTAT-JACOB
	GOUYGOU		(MATHEY
Bactériologie.....	(CHRISTOL		(OLIVIER(Cl)
	(NEVOT		(POILLEUX
Biol. méd.....	BOURLIERE		(THOMERET
Chimie méd.....	(ETTORI		(VERNE(J M)
Dermato-syphil.	DUPERRAT	Pat. expé-	(MAURICE
Embryologie.....	TUCHMANN	riment.	(LOEPER
	(BULLIARD		(BOUVIER
Histologie.....	COUJARD		(BOUDIN
	N. . .		(BRICAIRE
Hydrologie.....	CORNET		(BRISSAUD
Hygiène.....	(BOYER		(CASTAIGNE
	DEPARIS		(CONTE
Mal. infect.....	BASTIN		(DEROT
Médecine.....	(DEROBERT	Pat. méd.	(DOMART
légale et.....	(GAULTIER		(LAMOTTE
du Trav.).....	(HADENGUE		(LAROCHE
Neurochir.....	DAVID		(MACREZ
Neurologie.....	LHERMITTE		(MILLIEZ
	(GRASSET		(PEQUIGNOT
	(LE LORIER		(PERRAULT
	LEPAGE		(RAMBERT
Obstétrique.....	MERGER		(ROYER
	MORIN		(THIEFFRY
	RAVINA		(TURIAF
	ROBEY		(WOLFRAMM
Ophtalmo-.....	(BREGEAT	Pédiatrie	(JOSEPH
logie.....	(DESVIGNES		(POLONOVSKI Cl.
Orthopédie.....	JUDET		(MOZZICONACCI
Oto-rhino-.....	(AUBRY	Pharmacol.	(Melle LEVY
laryngo.).....	(MADURO		(CHEYMOL
Parasito.....	BRUMPT		(BARGEON
Parasito.col.	CHABAUD	Physiol.	(DEJOURS
	(ABOULKER		(PARROT
Pat. chir.....	BARCAT	Physique	(DJOURNÔ
	BAUMANN	médicale	(GOUGEROT
	CAUCHOIX	Pneum. phthis.	(KREIS

	MM.		MM.
Psychiatrie	(BARUK PICHOT	Stomato	(CHAPUT Mme CERNEA
Psych. infant.	MICHAUX	Urologie	KUSS
Rhumatologie	DELBARRE	Thérapeut.	CHASSAGNE

III.- PROFESSEURS HONORAIRES
et AGREGES RAPPELES à l'EXERCICE
pour le Service des Examens.

MM. GATELLIER, LE LORIER, VAUDESCAL.

IV.- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET
AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE
A TITRE PERMANENT

	MM.		MM.
Clinique chir.	(AMELINE	Urologie	COUVELAIRE
	HUGUIER		(BROUET
	LEGER		DREYFUS
	PADOVANI		FAUVERT
	ROUX	Clinique néd.	HAGUENAU
	(RUDLER		HAMBURGER
	(SICARD		KOURILSKY
Clinique } (ECALLE			(MARCHAL
obstét. } (MAYER			(SOULIE
Clinique } (OFFRET			
ophtal. } (RENARD			

Secrétaire de la Faculté M. MOREL
Secrétaire-Adjoint Melle CHAINTREUIL

Bibliothécaire en Chef Dr HAHN
Conservateur Melle GOICHON
Bibliothécaires. (Melles DUMAITRE
LE NOIR
METIN
QUIEVREUX

Par délibération en date du 9 décembre 1798,
l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans
les dissertations qui lui seront présentées,
doivent être considérées comme propres à
leurs auteurs et qu'elle n'entend leur don-
ner aucune approbation ni improbation.

A mes Parents et à ma Grand'Mère,

A ma Femme,

A mes deux Fils,

A ma Famille,

A mes Amis.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A mon Maître,

Monsieur le Professeur R. FASQUELLE

Professeur de Bactériologie à la
Faculté de Médecine de Paris,

Qui m'a fait le très grand
honneur d'accepter la
présidence de cette thèse
et qui a bien voulu me
guider de ses précieux
conseils. Avec ma reconnais-
sance pour son enseignement,

Hommage respectueux.

A mon Ami,

Claude HANNOUN

Docteur ès Sciences
Assistant à l'Institut
Pasteur

Qui m'a inspiré le sujet de
cette thèse et qui m'a
communiqué une part de son
enthousiasme pour les
problèmes virologiques.

A Monsieur le Professeur Agrégé L. LEGER,

A Monsieur le Professeur Agrégé Cl. OLIVIER,

A Monsieur le Professeur P. CHEVALLIER,

et à ses assistants

Monsieur le Docteur BILSKI-PASQUIER,
Madame le Docteur S. PERLES,

En témoignage de ma gratitude
pour la richesse de leurs
enseignements.

A mes Maîtres de l'Ecole de Caen,

Monsieur le Docteur MORICE
Monsieur le Docteur CHAPRON
Monsieur le Docteur GUIBE
Monsieur le Docteur Jean LHIRONDEL
Monsieur le Docteur Jacques LHIRONDEL
Monsieur le Docteur NAVARRE (In memoriam)
Monsieur le Docteur ROUSSELOT
Monsieur le Docteur VIGOT
Monsieur le Docteur VILLEY

A mes Maîtres des Hôpitaux de Paris,
pendant mon Externat,

Monsieur le Professeur MONDOR,
Monsieur le Professeur Agrégé L. LEGER
Monsieur le Professeur Agrégé Cl. OLIVIER
Monsieur le Professeur ALAJOUANINE
Monsieur le Professeur Agrégé P. CASTAIGNE
Monsieur le Docteur ANDRE
Monsieur le Professeur P. CHEVALLIER

A Monsieur le Professeur GASTINEL

A Monsieur le Docteur E. BAUDOUIN et
à Madame BAUDOUIN (In Memoriam)

Qui m'ont aidé de leurs
excellents conseils dont je
leur suis très reconnaissant.

A Monsieur le Docteur M. HUREZ

Qui a été mon premier maître.

A tous ceux qui m'ont aidé à poursuivre
mes études , et tout particulièrement

A mes Cousins, Monsieur et Madame F. MENARD

A Monsieur le Docteur H. MALHERBE

ESSAI DE MISE AU POINT
SUR LES ADENOVIRUS

-:-

"Tu auras une liste de
livres sur lesquels tu devras
parler et écrire".

Alain, Propos d'un Normand
II, p. 227.

P L A N

--:--

- I.- Introduction
- II.- Historique
- III.- Les faits de laboratoire
 - A - Techniques d'isolement et effets cytopathogènes
 - B - Propriétés physiques
 - C - Propriétés biologiques
 - D - Propriétés sérologiques et classification sérologique des types
 - E - Conclusion
- IV.- Les faits cliniques
 - A - La maladie expérimentale
 - B - Les syndromes cliniques
 - 1) Les maladies respiratoires en milieu militaire

2) Les maladies respiratoires
de la population générale

3) Les affections oculaires

4) Les maladies du système
lymphoïde

C - Epidémiologie

D - Prophylaxie

V.- Les Faits pratiques : le diagnostic
des maladies dues aux adénovirus

VI.- Conclusions

VII.- Bibliographie.

- I -

INTRODUCTION

—:—

En virologie, comme dans toutes les autres disciplines, la mise en oeuvre de techniques nouvelles entraîne de nombreuses acquisitions. C'est ainsi que la découverte des adénovirus est due aux techniques récentes de culture des virus en cultures de tissu. Cette découverte des adénovirus date de moins de 4 ans, et déjà elle a suscité une masse de travaux considérable dans le monde entier, qui chaque jour apportent de nouvelles données. Nous nous proposons, dans ce travail, d'essayer de faire le point des connaissances actuelles.

Dans un premier chapitre, nous envisagerons l'historique de la découverte de ces virus nouveaux ; puis nous diviserons l'étude proprement dite en deux groupes de faits, les faits de laboratoire d'abord, et enfin les faits cliniques. Cette démarche peut paraître inattendue, mais il nous a semblé qu'elle rendait mieux compte de la réalité. En effet, il était habituel que les cliniciens isolent un nouveau syndrome et demandent au laboratoire de leur apporter des éclaircissements. Dans le cas particulier des adénovirus, c'est devant

ce groupe de virus nouveaux (découvert au laboratoire) que l'on s'est demandé quel pouvait être leur rôle en pathologie humaine. De plus tout progrès dans la connaissance des faits cliniques s'appuie sur une série de travaux de laboratoire. Pour que cet exposé soit clair, il nous paraît donc nécessaire d'étudier d'abord les caractères des adénovirus au laboratoire. Nous terminerons en essayant de dégager les conclusions pratiques que l'on peut tirer de ces connaissances nouvelles,

- II -

HISTORIQUE

- :-

Relater l'historique de la découverte des adénovirus est en peu de mots raconter une "réaction en chaîne".

En décembre 1953, Rowe, Huebner et leurs collaborateurs (71) publient leur premier travail, relatant l'isolement d'un nouvel agent cytopathogène isolé en culture de tissu adénoïdien subissant une dégénérescence spontanée, dont ils décrivent déjà un certain nombre de caractères. Ils proposent de désigner cet agent sous le terme d' "agent de dégénérescence adénoïdienne" (adenoid degeneration agent, A.D. agent).

En janvier 1954, paraît le premier travail de Hilleman et Werner (32) qui ont isolé un agent cytopathogène pour les cellules HeLa à partir de gargarismes de malades au cours d'une épidémie de "maladie respiratoire aiguë" (acute respiratory disease A R D). La souche type est isolée d'abord en culture d'épithélium trachéal humain adulte. Le malade (cas 67) était atteint d'un syndrome de pneumonie atypique primitive. Des études sérologiques font penser que des virus de ce type

sont responsables d'un certain nombre de cas de "maladie respiratoire" (Respiratory illness). Et ce virus est désigné agent RI-67.

Puis, en avril 1954, Neva et Enders (60) isolent des selles d'un enfant atteint d'une éruption ressemblant à la roséole, accompagnée de conjonctivite et d'adénopathies cervicales et axillaires, un agent cytopathogène en culture de rein humain.

Au cours d'une épidémie de poliomyélite à Stockholm, en 1953, puis en 1954, chez des sujets atteints ou suspects de poliomyélite, dans des cas d'adénite mésentérique aiguë, dans des cas de pharyngite aiguë, Kjellen (52) isole à partir des selles ou des ganglions mésentériques, des agents cytopathogènes pour les fibroblastes et les cellules He La.

Ainsi presque simultanément, quatre groupes de chercheurs ont isolé indépendamment des agents qui ont des caractères communs : ils sont vraisemblablement de nature virale ; ils se manifestent seulement en cultures de tissu où ils provoquent des effets cytopathogènes bien particuliers essentiellement nucléaires, et qui se distinguent facilement des effets produits par les virus cytopathogènes déjà connus. Chez les malades où ils ont été isolés, ou chez le lapin immunisé artificiellement, on détecte des anticorps neutralisant le virus en cause, et non les virus déjà connus, de même que les anticorps neutralisant les virus connus sont sans action vis-à-vis de ces nouveaux virus. Ils n'ont pas de pouvoir pathogène pour les animaux de laboratoire habituels, et on n'obtient pas de culture en oeuf em-

bryonné. De plus, les études sérologiques, les circonstances cliniques de leur isolement invitent à rechercher leur rôle possible en pathologie humaine. On conçoit donc qu'une masse considérable de travaux ait été entreprise dès lors.

Et c'est ainsi qu'en quelques mois la connaissance de ces virus a progressé de manière explosive. Les caractères de laboratoire sont précisés. Rowe, Huebner et leurs collaborateurs montrent que les différentes souches isolées (plus de 100 dès 1954) (34) peuvent être rattachées à un groupe homogène par la possession d'un antigène soluble, fixant le complément et qui leur est commun, alors que les anticorps neutralisants permettent de distinguer plusieurs types sérologiques, 6 à ce moment ; le virus isolé par Hilleman appartenant au type 4 de Rowe, celui isolé par Neva et Enders au type 3, ceux de Kjellen aux types 3 et 5. Leur signification étiologique se précise également. Ginsberg et coll. (23) entreprennent une étude sérologique sur les sérums des sujets d'une expérience de la Commission des Maladies Respiratoires aiguës (14 et 15) au cours de laquelle on avait pu reproduire une maladie respiratoire aiguë par inoculation par les voies respiratoires d'un filtrat de gargarisme d'un malade. Ils montrent qu'on avait alors réalisé une maladie expérimentale dont le virus de type RI 67 était responsable.

Une étude sérologique de même type sur des sujets atteints d'une conjonctivite épidémique étudiée par Cockburn (12) à Gresley, Colorado, réalisée par Cockburn, Rowe et Huebner (13) permet d'incriminer le type 3, qui est aussi reconnu responsa-

ble de la fièvre pharyngo-conjonctivale qu'étudient Roll, Rowe et coll. (4). On réalise une maladie expérimentale qui est remarquablement plus facile à provoquer en employant la voie conjonctivale. L'aspect des cas cliniques où les virus sont isolés les fait dénommer agents adénoïde-pharyngo-conjonctivaux par Rowe et coll. (34).

Dans le même temps, apparaissent de nouveaux types, le type 7 isolé par Berge et coll. (8) au cours d'une épidémie semblable à celles observées par Hilleman, également en milieu militaire. Le type 8 est isolé et étudié par Jawetz et coll. (46) qui montrent son rôle étiologique très probable dans la kérato-conjonctivite épidémique. Quatorze types, dont 12 d'origine humaine sont décrits dans un travail récent de Rowe et coll. (74), tandis que Werner G. (90) en cite 16.

Enfin, en dehors des Etats-Unis, on met en évidence l'existence de ces virus dans le monde entier, tant par des isollements du virus, que par des études sérologiques. Citons parmi les travaux anglais Andrews (1), canadiens, Ormsby (61), italiens, Rolli (70), sud-africains, Westwood (92), allemands, Mumme (59); enfin, en France, les travaux de Sohier (80, 81), Barski (3) et Lépine (54), Lelong et Lépine (55).

De plus, des applications pratiques à ces connaissances ont été envisagées, la vaccination, surtout en milieu militaire, où la morbidité apparaît très importante (Huebner, Rowe, (44) et Hilleman et coll. (40)), voire des tentatives de traitement du cancer par ces virus (Southam, Hilleman et coll. (83), Smith, Huebner, Rowe et coll. (78, non encore publié)).

Le schéma de l'historique de cette question illustre l'importance de ces virus nouveaux, dont le rôle en pathologie apparaît ainsi très étendu, intéressant l'appareil respiratoire, tant les voies respiratoires supérieures, que les voies basses, les yeux, les ganglions lymphatiques mésentériques. Cet éparpillement des localisations s'explique en fait par le tropisme de ces virus pour le tissu lymphoïde.

En tous cas, nous avons vu que de nombreuses dénominations ont été proposées par les différents auteurs : agents de dégénérescence adénoïdienne pour Rowe et Huebner, puis virus A.P.C. (adénoïdo-pharyngo-conjonctivaux), agents RI 67 pour Hilleman, agents A R D (Acute Respiratory Disease) pour Ginsberg (23). Il apparut rapidement qu'il fallait trouver une terminologie unique. C'est dans ce but que d'éminents virologues américains et les principaux auteurs s'étant consacrés à cette question se sont réunis le 25 mai 1956 (Enders J.F., Bell J.A., Dingle J.H., Francis T. Jr, Hilleman M.R., Huebner R.J., et Payne A.M.M.(20)) et ils proposent d'employer dorénavant le terme "adénovirus", ce à quoi nous nous rangerons. De plus, au cours de cette même réunion, ces auteurs ont cité les principaux caractères des adénovirus, permettant actuellement de les définir et que nous reproduisons.

"Ils produisent une infection aiguë des muqueuses respiratoires et oculaires avec inflammation folliculaire du tissu lympho-adénoïdien sous-muqueux de ces muqueuses et aussi des ganglions lymphatiques régionaux. Les virus ont été fréquemment isolés

"de tissu amygdalien et adénoïdien de su-
"jets ne présentant pas de signes d'infec-
"tion aiguë. La multiplication du virus en
"culture de tissu de certains types de
"cellules humaines et simiennes intervient
"rapidement et détermine la formation
"accrue d'acide et des modifications cyto-
"pathogènes spécifiques. Comme les micro-
"photographies électroniques l'ont montré,
"les noyaux des cellules infectées par les
"virus peuvent contenir des figures symétri-
"ques de particules ressemblant à des
"virus. Un antigène unique pour le groupe,
"qui peut être mis en évidence par le test
"de fixation du complément est partagé
"par tous les membres de groupe. L'antigène
"de spécificité de type peut être mis en
"évidence par le test de neutralisation.
"Aucune souche n'a jusqu'à présent produit
"d'infection manifeste sur les animaux
"de laboratoire habituels."

- III -

LES FAITS DE LABORATOIRE

-:-

Nous nous proposons de les étudier dans un ordre non classique encore, en envisageant successivement les techniques d'isolement et les effets cytopathogènes, deux points difficilement séparables, puis les propriétés physico-chimiques, et enfin les propriétés biologiques générales (résistance aux antibiotiques, antiseptiques, inoculation aux animaux de laboratoire et enfin le point capital de l'antigénicité), ordre qui répond aux propriétés très particulières de ces virus.

A - LES TECHNIQUES D'ISOLEMENT
ET LES EFFETS CYTOPATHOGENES.

Rappelons tout d'abord que les travaux de la Commission de la "maladie respiratoire aiguë" (14 et 15) n'avaient pu aboutir à l'isolement d'un virus par les techniques de routine en virologie, en cours à cette époque, c'est-à-dire l'inoculation aux animaux et en oeuf embryonné.

Rappelons aussi les extraordinaires progrès récents faits dans les techniques de culture de tissu et leur application à

l'étude des virus, et d'abord à celle des virus poliomyélitiques. Citons les travaux de Dulbecco, de Youngner (94, 95), de Enders (19), de Morgan (57) ; des milieux de culture simples, bien standardisés sont maintenant utilisés ; la trypsinisation permet d'obtenir des cultures de tissu en couche mince adhérant à la paroi de verre et qui se prêtent particulièrement bien à l'observation de l'évolution de la culture par différentes méthodes (examen sans préparation au microscope ordinaire, ou fixation et coloration, ou encore, microcinématographie en contraste de phase). Il faut également rappeler l'isolement par Gey d'une souche de cellules néoplasiques obtenues à partir d'un épithélioma du col utérin, les cellules He La, qui se sont révélées être un excellent substrat pour l'étude des virus, et qui ont été très largement employées pour l'étude des adénovirus.

Ce sont ces progrès et l'utilisation systématique des cultures de tissu qui ont permis la découverte des adénovirus.

Nous allons envisager successivement les techniques qui ont permis aux premiers auteurs d'isoler les adénovirus ; puis nous passerons en revue les différentes techniques d'isolement et de culture employées, et enfin nous décrirons le type de dégénérescence provoquée par les adénovirus.

Le fait initial observé par Rowe, Huebner et coll. (71), est "la rencontre pendant une étude de la croissance de tissu adénoïdien humain en tubes roulants, d'une dégénérescence caractéristique qui est transmissible à d'autres cultures de tissus."

"Le tissu adénoïdien provenait de végétations adénoïdes, obtenues après intervention chez de jeunes enfants ; il est coupé puis lavé 3 fois avec du liquide nutritif. Ce liquide nutritif a été le plus souvent une modification du liquide décrit par Enders (liquide amniotique de boeuf), plus rarement liquide de Youngner modifié. Des cultures en explant de cellules He La fournies par les "Microbiological Associates" de Bethesda ont été préparées de la même manière. Les liquides de culture sont renouvelés deux fois par semaine et les liquides surnageants sont conservés en fioles à - 20°. Les passages sont réalisés par inoculation à l'aide de ce liquide surnageant dilué au 1/10e."

Les cultures de végétations adénoïdiennes semblent d'abord normales, mais du 8ème au 28ème jour, 33 sur 53 cultures présentèrent des modifications particulières. A la périphérie de la culture apparaissent des cellules arrondies ; elles s'étendent à la culture entière qui est complètement détruite en 7 à 10 jours. Les liquides surnageants de 14 cultures ont permis 13 fois la transmission de cette dégénérescence particulière à des cultures de végétations adénoïdiennes saines, de tissu embryonnaire humain, de cellules He La. En cellules He La, les cellules s'arrondissent et forment des agrégats qui quittent la paroi. Une souche isolée est passée 17 fois (1 fois en végétations adénoïdes, puis en trachée embryonnaire humaine, puis 15 fois en cellules He La), chaque passage reproduisant les modifications caractéristiques ; le temps d'incubation à chaque passage allant en se raccourcissant (1 jour au 17ème passage). Des passages en séries ont été obtenus aussi facilement pour d'autres

souches, et on obtient des titres d'infectiosité de 10^5 /ml en titrant sur cultures He La.

Un certain nombre de cultures de tissus différents ont été testées; se sont révélées être sensibles : les cultures de végétations adénoïdes humaines, de nez humain embryonnaire, de pharynx, de palais, de langue, de trachée, de peau, de muscle, de pancréas et de prépuce de nouveau-né humain, les cellules He La, de rein et de trachée de lapin nouveau-né, de trachée, poumon, rein, peau et muscle de hamster nouveau-né, de poumon et de peau d'embryon de poulet ; par contre n'ont pas été sensibles la trachée embryonnaire de boeuf, un mélange de tissus embryonnaires de souris, un glioblastome de souris, le testicule de singe, le rein et la trachée de cobaye.

Le matériel employé par Hilleman et Werner (32) était différent. Un virus était recherché délibérément au cours d'une épidémie de "maladie respiratoire aiguë" au Fort Leonard Wood et dans ce but les auteurs ont inoculé les gargarismes de malades en cultures de tissu. Les gargarismes ont été collectés le 2ème jour de la maladie en bouillon de veau, et conservés congelés à -70° ; centrifugés peu de temps pour éliminer les grosses particules avant d'être inoculés. Le malade n° 67, atteint de pneumonie atypique primitive a fourni le virus pris pour type par Hilleman et Werner. Son isolement a été réalisé par inoculation en tubes roulants de culture d'épithélium trachéal humain adulte préparée selon la technique de Enders, qui a présenté des lésions cytopathogènes dès le premier passage. Ces modifications ont été reproduites lors de 3 passages

sur le même type de culture, puis en cellules He La. Quatre autres souches, au cours de la même épidémie, ont été isolées directement en cellules He La cultivées en tubes (sur 29 gargarismes étudiés). Chaque tube recevait 0,1 ml d'inoculum. En l'absence d'effets cytopathogènes après 3 jours, cellules et liquide de culture sont broyés dans un mortier et inoculés dans un autre tube. Si aucun effet cytopathogène ne se produit, après 2 ou 3 passages, la tentative d'isolement est considérée comme ayant échoué. Des tubes de contrôle non inoculés sont pratiqués systématiquement. Les tubes de culture de cellules He La sont préparés selon la technique de Scherer, Syverton et Gey, mais sans utiliser la digestion trypsique. Le milieu de culture de cellules He La avant inoculation est un mélange de 25 parties d'un mélange de sérums humains, de 7 parties d'extrait embryonnaire de poulet, et de 68 de solution de Hanks, ce mélange étant additionné de pénicilline et de streptomycine, à la concentration terminale de 50 U de chaque antibiotique par ml. Avant inoculation, la culture est lavée trois fois à l'aide d'une solution de Hanks contenant 5 % de sérum de poulet et des antibiotiques, ce lavage ayant pour but d'éliminer le sérum humain du premier milieu. Au moment de l'incubation, les cultures en tubes sont âgées de 1 à 3 jours et comprennent 60 à 80.000 cellules. Le liquide d'entretien après inoculation contient 10 parties de sérum de poulet, 5 d'extrait embryonnaire et 85 de solution saline et les mêmes antibiotiques.

Quant à Neva et Enders (60), c'est à partir de selles prélevées le 8ème jour de la maladie que le virus est isolé

après passage sur cultures de rein humain en tubes roulants de peau et de muscle d'embryon humain.

Kjellen. (52) inocule les selles (surnageant après centrifugation d'une dilution à 10 %) des cas suspects de poliomyélite, en poumon humain embryonnaire, et les broyats des ganglions lymphatiques mésentériques aussi bien dans ce type de tissu qu'en cellules He La.

Telles ont été les techniques originales d'isolement des premiers auteurs. En fait, comme la première étude de Rowe et Huebner le montrait déjà, si un grand nombre de types de cultures de tissu sont sensibles à l'infection par les adénovirus, seuls quelques types présentent un intérêt certain. Les cultures de cellules He La ont été employées par tous les auteurs s'intéressant aux adénovirus, et semblent représenter le matériel d'étude le plus commode, par la rapidité de leur culture, qui est de plus bien standardisée et par la période d'incubation des effets cytopathogènes qui est relativement courte. De plus leur origine fait qu'ils ne présentent pas le risque, comme un certain nombre de cultures d'origine animale ou humaine, de porter des virus latents que la culture du tissu viendrait révéler, parasitant l'étude de l'adénovirus inoculé.

Le tissu pulmonaire humain embryonnaire est le matériel de choix pour Kjellen. Le tissu rénal a aussi été utilisé par Neva et Enders.

Le choix du tissu à employer au cours d'un isolement doit tenir compte du but que l'on se propose. C'est ainsi que pour

la préparation d'un vaccin il n'apparaît pas souhaitable que les virus passent à aucun moment sur des cultures de tissu cancéreux, et c'est dans ce but que Hartley, Huebner et Rowe (31) ont adapté des souches en cultures de rein de singe qui n'avaient passé auparavant que sur des cultures d'amygdales ou de végétations, et en tissu embryonnaire humain.

Les plus certaines souches plus récemment découvertes poussent mal en cellules He La (souche D.C.), et l'isolement de cette souche en tubes roulants d'épithélium embryonnaire humain sera probablement nécessaire. De même, les souches d'origine simienne sont plus faciles en cultures de rein de singe.

Les échantillons cliniques à partir desquels on tente un isolement (sécrétions rhino-pharyngées, pharyngées, conjonctivales, anales) sont déposés dans du milieu d'entretien de culture de tissu, et conservés congelés jusqu'à l'inoculation, le transport pouvant se faire en glacière. Les lavages de nez et de gorge peuvent être recueillis en bouillon de veau, ou de coeur de boeuf, ou en solution de Hanks, ou en milieu d'entretien de cellules He La. Les tissus (amygdales, végétations, ganglions méésentériques) sont broyés et mis en suspension à 10 % dans le milieu de culture approprié. Ces matériels à tester sont additionnés d'antibiotiques (pénicilline, streptomycine et aussi chloramphénicol). La température des chambres d'incubation est de 36 à 37°.

Rowe et Huebner (72) considèrent qu'un échantillon ne peut être considéré comme positif pour la présence des adénovirus

que si des modifications cytopathogènes sont transmissibles à un second lot de cultures. Dans tous les isoléments douteux, ou en cas de mort de la culture de tissu sans altérations caractéristiques, la tentative d'isolement est répétée à partir du matériel original. L'apparition d'un antigène fixant le complément dans le liquide de culture est dans ce cas utile pour indiquer l'isolement d'un adéno-virus.

Pour la recherche des virus, un échantillon est considéré comme négatif si les modifications caractéristiques n'interviennent pas en 12 à 15 jours d'observation. Cependant les virus se révèlent parfois plus tardivement, et il convient de conserver les cultures aussi longtemps qu'elles survivent en de bonnes conditions.

Le titrage de la quantité de virus produite peut se faire en cultures He La, en pratiquant une série de dilutions de raison 10 en milieu d'entretien de cellules He La et en inoculant 3 tubes avec chaque dilution, le titre s'exprimant par la plus haute dilution produisant des modifications cytopathogènes définitives.

L'aspect de ces modifications cytopathogènes dues aux adénovirus est bien particulier.

Au microscope ordinaire, et sans préparation, en culture de végétations infectées, Rowe et Huebner (71) notent du 3ème au 28ème jour, à la périphérie de la culture, l'apparition de cellules rondes. Ces cellules envahissent progressivement toute la culture qui est détruite entièrement en 7 à 10 jours. Ces cellules sont augmentées de volume, arrondies ou ovalai-

res, présentant un cerne uni et distinct, un cytoplasme clair à la périphérie, un centre intensément granulaire ; le noyau est obscurci par des granulations.

On retrouve le même type de lésions en tissu embryonnaire humain (72) . La destruction complète de la culture survient en 1 à 2 semaines, les cellules arrondies se rétrécissent et deviennent picnotiques avant de se lyser.

Une coloration à l'hématoxyline-éosine d'un épithélium trachéal embryonnaire a été étudiée par H. Pinkerton (cité par Rowe (71)) . : "Les cellules normales prennent l'imprégnation à l'hématoxyline à la fois sur le noyau et le cytoplasme. Les cellules atteintes montrent un noyau gonflé, éosinophile, avec ce que j'ai cru être des inclusions nucléaires ; elles sont habituellement basophiles, mais éventuellement éosinophiles. Il existe une margination et une fragmentation de la chromatine nucléaire qui s'imprègne intensément en bleu noir, souvent un plissement de la membrane nucléaire et un gonflement du noyau. Le cytoplasme s'imprègne en rouge intense et parfois renferme 10 à 12 petites inclusions bleu pâle. Souvent le noyau est confondu avec le cytoplasme, formant une masse granulaire pourpre dans laquelle on ne peut plus le reconnaître".

En cultures de fibroblastes (72, et Kjellen 52), les premières modifications sont l'apparition de cellules arrondies, granulaires, de taille augmentée et de formes irrégulières ; elles sont disséminées sur toute la culture, survenant à l'occasion en foyers. La progression des lésions est très lente (2 à 3 mois pour la destruction complète de la culture). Sur des cul-

tures possédant à la fois des cellules épithéliales et fibroblastiques, il est remarquable que les cellules épithéliales sont sévèrement atteintes avant que ne surviennent les altérations des fibroblastes. Dans les préparations colorées de fibroblastes (52) les modifications des noyaux sont frappantes ; ils sont gonflés, d'aspect irrégulier ; la membrane nucléaire est soit invisible, soit plus marquée que normalement. La chromatine présente une distribution inégale ; elle paraît parfois vacuolisée avec des zones arrondies légèrement acidophiles. On rencontre ces taches acidophiles beaucoup plus rarement dans le cytoplasme.

En cultures de cellules He La (72), on note encore l'arrondissement des cellules ; ces cellules s'agglutinent et quittent la paroi du tube. Elles présentent un cerne fin, une granulation dense et semblent fusionnées les unes aux autres ; L'abaissement du pH en cultures He La est très net ; il ne survient pas dans les cultures de contrôle, et est empêché par les sérums immuns. On obtient un titre d'infectiosité de l'ordre de 10^{-5} , 10^{-6} .

En rein de singe (72), on obtient des modifications cellulaires de même type, mais ces modifications progressent lentement et au cours des passages ultérieurs, la période d'incubation se prolonge, et l'on n'obtient que de faibles quantités de virus. Ces cultures ont cependant permis l'isolement de souches d'adénovirus.

En testicule de singe, après des échecs (71), on a obtenu (72) avec de fortes concentrations de virus l'apparition en environ 5 jours de cellules arrondies,

dont le nombre ne s'accroît plus, et la culture reprend un aspect normal en quelques semaines. On ne peut y réaliser de passages en séries ; il n'apparaît pas d'antigène fixant le complément, et seulement de faibles quantités de virus.

En trachée de lapin (72), modifications également atypiques. Les cellules rondes n'apparaissent qu'à la périphérie de la culture, l'atteinte progressant peu à peu pour les adénovirus de types 1 et 2 de la périphérie vers le centre, grignotant la culture, ou bien avec les types 3 et 4 on assiste à une régression des lésions.

Au total, quatre types de cultures de tissu apparaissent actuellement intéressants ; au premier chef les cellules He La, l'épithélium embryonnaire humain, les fibroblastes et le rein de singe. Les lésions apparaissent après une période d'incubation qui varie avec le type de tissu, de 1 jour à 25 jours et plus en cellules He La, de 8 à 40 jours en fibroblastes, 4 à 8 jours en épithélium humain embryonnaire (71), et ceci pour la plupart des souches d'adénovirus ; mais elle varie aussi avec la quantité de virus inoculée et Kjellen (53) a montré qu'il existait une relation linéaire entre la durée de l'incubation et le logarithme de la concentration du virus inoculé, mais cette relation est différente avec des virus de types différents et même avec des lignées différentes d'une même souche.

Des études plus précises des modifications cytopathogènes ont été poursuivies essentiellement en cellules He La. Nous rendrons compte de celles de Barski (3) en France et de Morgan (58) aux Etats-Unis.

Barski a étudié 4 souches (types 1, 3, 4 et 5) en cultures sur lamelles ce qui permet une observation continue au microscope ordinaire et en contraste de phase, et facilite la préparation de lames colorées. Le schéma des lésions en cellules He La et en cellules de rein de singe est le même, mais il a observé des différences entre les différents types de virus étudiés.

Avec le type 1, il note une rétraction générale de la culture de cellules He La, qui du 3ème au 5ème jour, forme un réseau à mailles plus ou moins distendues. Les lésions cellulaires sont essentiellement nucléaires : des vacuoles y apparaissent qui s'élargissent en gonflant et en déformant le noyau ; tandis que dans les mailles du réseau vacuolaire apparaît une substance dense, prenant intensément les colorants acides et basiques, formant des inclusions d'aspect irrégulier. Ces inclusions apparaissent en dehors des nucléoles qui peuvent persister. Puis les limites entre les vacuoles s'effaçant, les inclusions finissent par former une masse dense entourée d'un halo très clair. En rein de singe, les inclusions ont un polymorphisme très particulier à cette souche.

Avec le type 3, on n'obtient pas l'aspect de rétraction en mailles ; l'inclusion apparaît très fortement colorée (surtout basophile), assez compacte. La vacuolisation du noyau est ici beaucoup plus atténuée.

Le type 4 donne des lésions de la nappe cellulaire, semblables à celles du type 3, avec une faible tendance à la rétraction ; la lésion nucléaire comporte comme pour le

type 3 une inclusion unique ., mais qui est entourée de vacuoles multiples.

Quant au type 5, les lésions sont identiques à celles du type 1.

Au total, les lésions des types 1 et 5 s'opposent à celles du type 3, tandis que le type 4 donne un type de lésion intermédiaire.

Les études de cellules He La infectées, au microscope électronique (Harford (30) et (29), et Hilleman (38)) montrent que le virus se développe essentiellement dans le noyau, où il se présente en aspects évoquant un arrangement cristallin. C'est surtout Morgan (58) qui étudie bien la lésion cellulaire en cellules He La par cette technique. Nous citerons ses conclusions : "Un matériel dense, granulaire et réticulaire se condense en multiples foyers à l'intérieur du noyau. La présence de nucléoles intacts de temps en temps, dans des cellules présumées à un stade précoce de l'infection, suggère que ces condensations ne représentent pas forcément des nucléoles fragmentés. À l'intérieur ou contiguës à ce matériel, les particules virales se différencient. Lorsque la concentration de virus devient suffisamment forte en n'importe quel point, et remplace la matrice nucléaire, la cristallisation survient. Dépendant de facteurs inconnus qui déterminent la réponse de la cellule hôte, les cristaux peuvent continuer à augmenter de volume ou se désintégrer. La désintégration survient habituellement à la périphérie du noyau tandis que la différenciation du virus se poursuit au centre. Le noyau augmente de volume lorsque sont produites de grandes quantités de

virus. Si la membrane nucléaire reste intacte, le matériel dense est progressivement utilisé par les virus qui se développent, jusqu'à ce que le noyau ressemble à un sac rempli de particules virales. La membrane nucléaire peut se rompre à n'importe quel moment du développement des virus, laissant les particules envahir le cytoplasme."

Il faut noter par contre que des aspects de dégénérescence cytoplasmique ont été rencontrés aussi bien en cellules infectées qu'en cellules non infectées, et que ces lésions ne peuvent pas ainsi être considérées comme une réponse spécifique à l'infection virale.

De plus, dans le noyau de cellules infectées avec le type 3 seulement et inconstamment, on rencontre des structures en lamelles d'aspect tubulaire, dont on n'a pas reconnu la signification.

En résumé, les adénovirus provoquent des lésions d'un certain nombre de types de cultures de tissu bien particulières qui sont essentiellement des lésions nucléaires, ne ressemblant pas aux effets cytopathogènes dus à d'autres virus. Les études au microscope électronique permettent de préciser que ces lésions sont dues au développement des adénovirus au niveau du noyau.

B - PROPRIETES PHYSIQUES.-

La taille a été étudiée au microscope électronique, soit sur une suspension de particules virales purifiées (Hilleman et coll. (38), soit en cellules He La infectées (Harford (30), Morgan (58)) et aussi

par filtration sur membranes graduées et par sédimentation (Hilleman et coll. (38)). Ces différents auteurs ont obtenu des résultats un peu différents.

La filtration sur membranes donne une taille de 80 à 120 m μ , les particules filtrant à travers des pores de 160 m μ et non à travers ceux de 140 m μ .

La sédimentation (à 8.360 et 12.500 tours/minute et pour une densité de 1,104) donne une taille de 114 à 115 m μ .

Les microphotographies électroniques montrent des particules sphériques remarquablement uniformes ayant 97 m μ de diamètre.

Notons de plus que l'étude de Hilleman a porté également sur l'antigène de fixation du complément par sédimentation et filtration qui lui assignent des dimensions de 26 à 40 m μ .

Hilleman remarque de plus que le nombre de particules virales observées au microscope électronique est bien plus grand que les titrages d'infectiosité en cultures de cellules pouvaient le laisser supposer.

Harford, au microscope électronique, en culture de cellules He La, 20 à 48 h après l'infection, rencontre seulement dans le noyau, des particules virales d'un diamètre d'environ 40 m μ . Il note l'arrangement des particules en lignes parallèles, comme dans une formation cristalline.

L'étude de Morgan sur un matériel identique (types 3, 4 et 7 d'adénovirus) donne un diamètre d'environ 60 m μ (distance de

centre à centre de 65 m μ (dans les amas serrés de virus). Cette étude rapporte également que les particules virales ont des aspects différents, certaines paraissent en effet avoir une plus grande densité ; la plupart des particules de moindre densité ont un corps interne d'un diamètre d'environ 24 m μ . Il suggère que les dimensions un peu plus élevées trouvées par Hilleman, s'expliquent par une dilatation des particules virales par les forces de tension de surface lorsque la préparation est desséchée.

Une étude de la constitution chimique (58) du virus, faite par comparaison de coupes minces étudiées au microscope électronique, et de coupes épaisses, pour l'examen au microscope ordinaire, de préparations colorées, d'un même matériel, montre que les agrégats de virus, cristallins ou non, sont fortement Feulgen positif, ce qui indique que le virus contient de l'acide desoxyribonucléique

C - PROPRIETES BIOLOGIQUES.

Rappelons que les virus ne peuvent être obtenus au laboratoire qu'en cultures de tissus.

Rowe, Huebner et coll. (72) ont tenté l'inoculation aux animaux de laboratoire, par un grand nombre de voies, sans obtenir aucun signe clinique d'infection. Les animaux suivants ont été testés : lapin adulte, souris adulte et nouveau-né, cobaye adulte et nouveau-né, hamster nouveau-né, rat du coton, rat blanc, chaton, furet adulte, singes rhesus et chimpanzé. On obtient de

temps en temps des anticorps fixant le complément chez le cobaye, le rat du coton et le chimpanzé. Le lapin n'en produit que peu ou pas après une seule injection, mais on en obtient de hauts titres après hyperimmunisation.

Hilleman (32) a également inoculé des oeufs embryonnés de poule dans le sac vitellin, les cavités allantoïde et amniotique, sans succès. De même, il n'a pas obtenu de culture sur les milieux artificiels suivants : gélose au sang, gélose-ascite, bouillon de veau à 10 % de sérum de lapin, bouillon au thioglycolate. La méthode de coloration de Dienes pour les P.P.L.O. n'a pas montré de culture.

Les adénovirus sont sensibles à la chaleur : ils sont détruits par le chauffage à 56° pendant 30 minutes ; par contre, ils ne sont pas sensibles au froid. On peut les conserver par congélation à - 20° pendant plusieurs mois (73). Ils résistent de même à des séries de congélation décongélation, ce qui fournit une méthode de séparation du virus des cellules où il a poussé. A 2°, ils restent vivants, pendant 4 mois. La lyophilisation n'entraîne pas de perte d'activité immédiate.

Le type 2 a été testé (72) aux variations de pH : entre 3,1 et 7,9 il conserve son activité.

La résistance des adénovirus à l'éther est un de leurs caractères importants. Le traitement par 20 % d'éther pendant 18 h à 2° n'entraîne pas de perte de pouvoir infectant (72). Ceci permet de détruire les contaminations bactériennes et mycosiques des prélèvements.

Ils sont sensibles au chlore (Clarke et coll. (11)). Ce fait est important, car l'eau des piscines avait été suspectée d'être responsable de contamination par voie conjonctivale. Cette sensibilité est même très grande : elle est comparable à celle de bactéries telles qu'*Escherichia coli*, et beaucoup plus grande que celle du virus coxsackie A₂. A titre indicatif, nous citerons la durée approximative nécessaire pour tuer plus de 99 %, et moins de 100 % des microorganismes, à pH 7, à une température de 25°, pour une concentration de chlore de 0,05 à 0,12 (p.p.m.) : *Escherichia coli* : < 60" ; *S. typhosa* : 60" ; adénovirus type 3 : 16" ; coxsackie A₂ : 240" ; A pH 9 et à 4°, sa résistance est plus grande, mais elle varie dans le même sens que celle d'*Escherichia coli*, qui reste pour les adénovirus, et en eau chlorée, un excellent test de contamination d'une telle eau.

La résistance aux antibiotiques et sulfamides est grande. Tous les types résistent à des concentrations de pénicilline et de streptomycine de 250 mg/ml ; le type 2 à 50 U d'aureomycine et 500 U de terramycine/ml, à 1 mg/ml de sulfadiazine ou de gentamicine (12). Ils résistent également au chloramphénicol.

Enfin, parmi les propriétés biologiques, il faut rappeler qu'ils acidifient le milieu de culture des cellules He La.

Nous pensons qu'il faut aussi rappeler ici le mode très particulier de développement des virus à l'intérieur du noyau des cellules He La, et en particulier leur arrangement en cristaux (5C). Ces cristaux

ayant toujours la même structure, décrite par Morgan comme une "trame cubique à corps central, où chaque particule a 8 plus proches voisins."

D -- LES PROPRIÉTÉS ANTIGÉNIQUES.

Deux propriétés antigéniques distinctes ont été reconnues aux adénovirus, d'une part la possession d'un antigène de fixation du complément, d'autre part celle d'un antigène de neutralisation. Ces propriétés ont une double importance théorique et pratique considérable : l'antigène de fixation du complément étant commun au groupe des adénovirus, l'antigène de neutralisation permettant de décrire à l'intérieur du groupe des adénovirus un certain nombre de types.

1) Les tests de fixation du complément.

L'antigène de fixation du complément est du type Antigène soluble. Rowe et Huebner (72) ont montré que par une technique de sédimentations différentielles, sur des liquides de cultures de cellules He La infectées avec les 4 premiers types de virus, on pouvait séparer les particules virales infectantes de l'antigène de fixation du complément.

En pratique, on peut utiliser, comme antigène les liquides de culture de cellules He La infectées (Rowe et Huebner (72), Hilleman et Werner (32), Kjellen (53)). Rowe et Huebner conseillent cependant de préparer ces antigènes sur des milieux ne contenant que des protéines de poulet. L'antigène est titré avec des sérums de lapin hyperimmunisé avec des virus ayant

poussé sur des milieux ne contenant pas de protéines de poulet. On exige un taux de $1/32^e$.

La réaction de fixation du complément préconisée par Rowe et Huebner, est une modification de la réaction de Bengtson (7) (période de fixation d'une nuit).

La technique de Hilleman (32) pour tester un sérum de malade est du même type. L'antigène utilisé est une suspension de virus utilisée pour l'inoculation de cultures de tissus. Un témoin antigène est fourni par des cultures de tissus non inoculés traitées de la même manière. Le sérum à tester est inactivé à 56° pendant 30 minutes et on en fait une série de dilutions de raison 2 (du $1/5^e$ au $1/160^e$). Le test est réalisé en mettant en présence 0,25 ml de chaque dilution du sérum avec 2 unités précises de complément de cobaye, sous un volume de 0,5 ml et de 2 Unités d'antigène sous un volume de 0,25 ml. On fait incuber ce mélange une demi-heure à 37° ; puis on ajoute 0,5 ml d'un système hémolytique (0,25 ml d'hématies de mouton à 3 %, et 3 unités de sensibilisatrice antimouton) sous 0,25 ml en sérum physiologique. La lecture est faite après 30 minutes d'incubation à 37° . Le titre du sérum est celui de la plus haute dilution, provoquant une fixation à +++ (Rappelons que les auteurs américains utilisent une notation allant jusqu'à ++++).

Kjellen (53) emploie une microméthode (de Fulton et Darbell, modifiée par Svednyz). Il fait subir à l'antigène un chauffage à 56° pendant 30', ce qui n'en diminue pas le pouvoir antigénique.

Les autres auteurs emploient des techniques comparables. En France, Sohier (81) a utilisé une microméthode de fixation du complément à froid, dérivée de la réaction de Kolmer (en tubes).

Cette réaction peut permettre deux types de recherches différents : d'une part étudier un sérum de malade et déterminer son titre en anticorps de fixation du complément, contre l'antigène des adénovirus ; (nous étudierons les résultats fournis par cette technique au chapitre de l'épidémiologie) ; d'autre part de tester les propriétés anti-éniques d'une souche de virus que l'on désire identifier, à l'aide de sérums connus, obtenus soit expérimentalement par hyperimmunisation du lapin, soit chez l'homme convalescent d'une affection à adénovirus.

En effet, Huebner et Rowe (43) ont montré que les 6 types d'adénovirus connus au moment de leur étude possédaient en commun cet antigène de fixation du complément. Ils font remarquer qu'il existe cependant des variations quantitatives entre les types, mises en évidence par une étude portant sur les sérums de phase aiguë et de convalescence de plus de 30 sujets infectés avec les 6 types sérologiques. Dans tous les cas, plus de 70 % des sujets infectés par l'un quelconque des types présentaient une augmentation du titre de l'anticorps de plus de quatre fois contre les autres antigènes. Des 6 antigènes, le type 2 semble avoir les propriétés anti-éniques les plus étendues, puisque 90 % des sujets infectés avec les autres types montraient une augmentation significative du taux de l'anticorps pour ce type. Lors de la découverte des nouveaux types, cette

communauté antigénique s'est confirmée (Berge (8)) pour le type 7, en utilisant comme antigène, la souche RI 67 : Jawetz, etc). De plus, les anticorps de fixation du complément obtenus par l'inoculation d'adénovirus au lapin ne réagissent qu'avec des antigènes provenant des adénovirus. De la même manière, les sérums de malades montrant une élévation significative des anticorps de fixation du complément pour l'antigène des adénovirus, ne présentent pas d'anticorps de fixation du complément pour d'autres virus, tels que la fièvre Q ou l'antigène du groupe psittacose-lymphogranulomateuse vénérienne (32). Ainsi cet antigène soluble est spécifique du groupe des adénovirus. Si bien que pour qu'un virus nouvellement isolé puisse être rattaché au groupe des adénovirus, il faut exiger qu'il soit porteur de cet antigène (Rowe, Hartley, Huebner, (74)). C'est cette spécificité de groupe qui donne tout son intérêt au test de fixation du complément dans les études épidémiologiques et qui permet, par une augmentation significative du taux des anticorps, d'affirmer l'existence d'une infection par les adénovirus. Mais on sait que la réaction est plus franche avec la souche homologue qu'avec les souches hétérologues ; et pour déceler toutes les élévations du taux des anticorps fixant le complément, il faut utiliser plusieurs antigènes (Rowe et Huebner (75)).

2) Les tests de neutralisation

Sont d'une réalisation plus délicate que les tests de fixation du complément, car ils doivent être réalisés en culture de tissu. Ce sont les cellules He La qui fournissent le substrat le meilleur pour ces tests.

Deux techniques ont été utilisées par Rowe et Huebner (72) . Le premier procédé diminue la toxicité non spécifique du sérum pour les cellules He La et les réactions croisées entre les types ; le second est plus sensible pour la détection des anticorps, mais il accentue les réactions croisées.

Premier procédé : Le virus est dilué en milieu d'entretien de cellules He La à une concentration déterminant des modifications cytopathogènes totales en 3 à 5 jours. Le sérum à étudier est inactivé à 56° pendant 30 minutes et des dilutions sont préparées à l'aide du milieu d'entretien. On mélange 1 volume de dilution de virus à 1 volume de dilution de sérum et on laisse incuber à la température du laboratoire pendant 30 minutes, puis on ajoute 8 volumes de milieu d'entretien, et l'on porte 0,8 ml de ce mélange dans deux tubes de culture. Un contrôle de virus est réalisé par l'inoculation dans 3 tubes de dilution de virus additionnée seulement de milieu d'entretien. On ajoute au test des sérums connus positifs et négatifs à titre de contrôle. Les sérums de la phase aiguë et de la convalescence sont titrés simultanément. Les liquides sont renouvelés le lendemain de l'inoculation pour éviter les agglutinations des cellules He La par les sérums de lapin ou humains.

Deuxième procédé : Ici la dilution du virus est telle qu'elle provoque des modifications cytopathogènes +++ du 2ème au 3ème jour, et les liquides ne sont pas renouvelés après l'inoculation. La plus grande sensibilité de ce test est vraisemblablement due au fait qu'ainsi l'anticorps n'est pas enlevé.

La lecture des modifications cytopathogènes est notée de 0 à ++++.

Pour les études de sérums humains on teste des dilutions de raison 4 de ce sérum. Le test est lu 24 h après que les contrôles de virus ont produit des modifications +++ (atteinte des $\frac{3}{4}$ de la culture). On dit qu'il y a neutralisation nette s'il existe une différence de plus de ++, entre le test et son contrôle ; la neutralisation est partielle pour une différence de ++, et négative si elle est inférieure à ++. Le titre d'un sérum est la plus forte dilution donnant une neutralisation nette, la dilution supérieure étant négative. Mais les différences de sensibilité des cellules He La aux adénovirus affectent la précision de ces tests. Des tests préliminaires de sensibilité diminuent l'étendue de ces variations.

Pour le typage des souches, on utilise des sérums de lapins hyperimmunisés. Les tests sont lus 48 h après que les contrôles de virus ont présenté une atteinte +++, dans le but de diminuer les réactions croisées partielles, et éventuellement les inhibitions transitoires non spécifiques du virus. Le critère de neutralisation est la complète prévention des effets cytopathogènes. Le sérum de lapin provoque une faible et transitoire inhibition des effets cytopathogènes, on ajoute de tels sérums au contrôle de virus à une dilution égale à la plus faible dilution d'antisérum de lapin utilisée dans le test.

On peut confirmer les résultats des tests de neutralisation par un test de fixation du complément dans le liquide de culture

du test de neutralisation. Il existe toujours un parallélisme entre l'inhibition de l'antigène de fixation du complément et l'inhibition des modifications cytopathogènes.

La technique de neutralisation utilisée par Hilleman et Werner (32) est comparable. Ici le virus d'ensemencement est titré pour déterminer des effets cytopathogènes en 48 h et conservé en ampoules scellées à -70° . Les dilutions de sérum sont aussi de raison 4. On ajoute à 0,15 ml de cette dilution, 0,3 ml d'une dilution de virus titrant dix unités cytopathogènes et on laisse incuber 30 minutes à 36° . Deux tubes sont inoculés avec 0,15 ml du mélange. Les cultures sont examinées jusqu'à complète dégénérescence des tubes ne contenant pas d'anticorps. Le taux de neutralisation est la plus haute dilution inhibant complètement la dégénérescence cellulaire. Des contrôles non inoculés, des titrages de virus sont toujours inclus dans ces tests. Les sérums de phase aiguë et de convalescence sont titrés simultanément.

Les résultats de ces tests ont montré que le groupe des adénovirus pouvait être subdivisé en types sérologiques. Rowe et Huebner (72) décrivent d'abord 4 types certains et 2 probables, l'agent RI 67 de Hilleman étant pris pour prototype du type 4. Chaque prototype de virus est neutralisé par le sérum de lapin homologue et non par les sérums hétérologues. Un certain nombre de réactions croisées ont été rencontrées entre certains types ; mais ces réactions croisées sont toujours beaucoup moins intenses que la réaction homologue, et de plus elles se font dans un seul sens : par exemple, un sérum anti-

type 4 neutralise à forte concentration les types 1 et 2, mais les sérums antitypes 1 et 2 ne neutralisent pas le virus de type 4.

La validité de cette classification en types sérologiques à l'aide de sérums expérimentaux a été confirmée par un certain nombre de faits. Des sérums de jeunes enfants testés contre différents types ont présenté une activité neutralisante contre un seul type ; l'étude sérologique du sérum de 200 sujets a montré des modes de réactions entièrement différents pour les différents types : aucun des anticorps actifs contre un type n'est lié de manière absolue à l'anticorps actif contre un autre type ; les souches de virus récupérées chez un sujet infecté expérimentalement avec un type présentent les mêmes réactions sérologiques que le type inoculé.

Depuis cette étude, les types 5 et 6 ont été confirmés et un certain nombre de types nouveaux ont été décrits (Berge découvre le type 7 (8), Jawetz le type 8 (46), Kibrick les types 9 et 11, Rowe et Huebner le type 10 et 10C, Hull (45) et Sabin, deux souches d'origine simienne). G. Werner (91) cite dans un article récent 16 prototypes actuels et Rowe et Huebner (74) annoncent que l'étude de nouveaux types est en cours. Par ailleurs, l'existence d'anticorps de fixation du complément naturels chez différents animaux (cobaye), peut laisser prévoir la découverte de nouveaux types chez ces animaux.

Certaines différences mineures avec les propriétés du groupe sont apparues pour ces souches récentes ; c'est ainsi que les effets cytopathogènes produits par les

souches 9', 10 et SV₁ en cellules He La sont caractérisées par l'apparition de cellules rondes ici et là, sans formation d'agrégats. La souche SV₁ ne peut être maintenue par passages sur cellules He La, mais seulement en rein de singe ; enfin il faut de fortes quantités de virus DC pour produire des effets cytopathogènes très anormalement retardés et progressant lentement.

Nous reproduisons ci-après deux tableaux donnés par Rowe et Huebner (74).

Le premier donne le titre des anticorps neutralisants de sérums de lapins immunisés à l'aide de prototypes d'adénovirus, en les testant contre ces virus prototypes.

Ce tableau montre la faible étendue des réactions croisées et le fait qu'elles n'ont lieu que dans un seul sens.

Le second tableau, emprunté à la même publication est complété par les indications fournies par Rowe qui accompagnent l'envoi de souches prototypes (du 24.I.57).

Il donne la liste des prototypes d'adénovirus, le nom de la souche, la source dont ils proviennent, le diagnostic de la maladie où ils ont été isolés, et le nom de l'auteur ayant réalisé cet isolement.

E - CONCLUSION.

Tels sont les caractères de laboratoire qui ont permis l'isolement du groupe des adénovirus, que nous rappelons schématiquement : effets cytopathogènes, bien particuliers par l'atteinte élective du noyau, effets surtout marqués pour la plupart des souches en cellules He La, où la multiplication du virus s'accompagne d'une acidification du milieu (qui peut d'ailleurs être mise facilement en évidence par l'addition au milieu de culture de rouge de phénol), l'absence de pouvoir pathogène pour les animaux de laboratoire, l'absence de culture en oeuf embryonné, et sur les milieux bactériologiques les plus divers, la résistance aux antibiotiques et à l'éther, l'existence de propriétés antigéniques, avec un antigène de type "soluble", fixant le complément et commun au groupe, et un antigène de neutralisation, permettant de définir un certain nombre de types, dont le nombre ne cesse d'ailleurs d'augmenter.

Outre cet intérêt dogmatique, ces propriétés des adénovirus ont un intérêt pratique, et tout particulièrement les propriétés antigéniques. La spécificité de groupe de l'antigène de fixation du complément permet par l'étude de sérums couplés prélevés à la phase aiguë et à la convalescence, de faire la preuve d'une infection récente par des adénovirus lorsqu'on constate une élévation significative (d'au moins 4 fois) du taux de l'anticorps correspondant chez un malade, ou même quand seul le prélèvement de convalescence a été effectué et qu'il présente un taux élevé. Cette réaction est facile à pratiquer, étant

calquée sur celles pratiquées en sérologie de la syphilis ; l'antigène est facile à préparer et elle mérite d'entrer dans la pratique courante de laboratoire dans un proche avenir.

Mais elle ne permet pas de faire la preuve du type de virus en cause, diagnostique qui ne peut être obtenu que par un test de neutralisation, qui, étant donné l'abondance du matériel qu'il nécessite (nombreux tubes de cultures, véritable collection de sérums spécifiques) ne peut être réalisé que dans des laboratoires spécialement équipés.

L'augmentation du taux des anticorps de fixation du complément atteint son maximum habituellement à la fin de la 2ème semaine, tandis que ce maximum n'est atteint pour l'anticorps de neutralisation que vers le 21ème au 30ème jour de la maladie (Hilleman et Werner (32)).

Nous signalerons dans la conclusion générale de ce travail les éléments de laboratoire qui permettent le diagnostic différentiel des affections à adénovirus.

La schématisation à laquelle nous sommes tenus ne doit pas faire méconnaître un certain nombre de difficultés qui se présentent dans une étude virologique pratique, sur lesquelles G. Werner a insisté dans une publication récente (91). Par exemple, rappelons l'existence de réactions croisées pour certains types d'adénovirus pour les faibles dilutions, qui obligent à pousser les dilutions assez loin pour obtenir un diagnostic de type exact ; évoquons encore les problèmes que posent la persistance de virus dans les selles, tel le virus herpétique qui ne doit pas faire méconnaître le rôle d'un

adénovirus, et ceux que posent l'existence de virus latents dans certaines cultures de tissu, de rein de singe en particulier où Hull et Minner ont pu démasquer par la culture in vitro 18 virus différents.

Ces restrictions apportées, nous allons pouvoir aborder le chapitre de la clinique des adénovirus à laquelle le laboratoire a apporté une contribution essentielle.

- IV -

LES FAITS CLINIQUES

-:-

Nous nous proposons d'étudier d'abord la maladie expérimentale. Celle-ci a en effet été réalisée avant la découverte des adénovirus : de plus, elle fournit la preuve indiscutable du rôle pathogène de ces virus nouveaux, et elle permet de mieux comprendre la variété des syndromes cliniques réalisés par l'infection due aux adénovirus.

A - LA MALADIE EXPERIMENTALE.

En 1947, la Commission des "maladies respiratoires aiguës" de l'armée américaine (15) a publié les résultats d'une série d'expériences, sur des volontaires humains, de transmission de maladies aiguës respiratoires d'étiologie inconnue. Les volontaires ont reçu par instillations rhinopharyngées, 10 ml d'excrétions rhinopharyngées abactériennes filtrées, provenant de malades atteints de deux types de maladies respiratoires, d'une part de "maladie respiratoire aiguë", d'autre part de catarrhes rhinopharyngés sévères et modérés. La "maladie respiratoire aiguë" est pour les auteurs américains une in-

fection respiratoire aiguë fébrile de courte durée avec des signes généraux et des signes localisés à l'appareil respiratoire, essentiellement toux et voix rauque, et fréquemment une irritation de la gorge, une obstruction nasale et des douleurs thoraciques. On n'a obtenu après ces inoculations qu'une maladie respiratoire bénigne, traduite par un catarrhe rhinopharyngé, après 5 à 6 jours pour le 1^{er} groupe, après 1 à 2 jours pour le 2^{ème} groupe. Les nouvelles inoculations dans les 2 groupes avec des matériels homologues et hétérologues n'ont pas montré d'immunité pour le second groupe, tandis que le groupe des maladies respiratoires aiguës présente une immunité exclusivement homologue. La Commission a conclu de ses travaux qu'au moins deux agents, probablement des virus, étaient responsables des maladies respiratoires d'étiologie indéterminée.

Ginsberg et coll. (23) ont, après la découverte des adénovirus, entrepris l'étude sérologique d'un certain nombre de cas représentatifs de l'étude de la Commission. Chez le donneur de sécrétions transmettant la maladie respiratoire aiguë, et chez les receveurs de ces sécrétions, il s'est développé des anticorps neutralisant la souche RI 67 de Hilleman (adénovirus de type 4).

De plus la maladie survint dans une forte proportion des receveurs qui, avant l'inoculation, n'avaient pas d'anticorps neutralisant le type 4. Une augmentation du titre de ces anticorps est constatée dans tous les sérums n'ayant pas d'anticorps avant l'inoculation. Les sujets possédant des anticorps avant inoculation étaient résistants à l'infection et ne

présentent pas d'augmentation ultérieure, du taux des anticorps. Dans le groupe des catarrhes rhinopharyngés aucun anticorps neutralisant le type 4 ne s'est développé. La corrélation entre l'apparition de la maladie et l'absence d'anticorps avant l'inoculation, et l'apparition d'anticorps à la convalescence est un élément important pour incriminer le type 4 dans la responsabilité de la maladie respiratoire aiguë.

Cette observation apparaît d'ailleurs privilégiée. En effet Hilleman (83) inoculant par voie respiratoire des adénovirus à des cancéreux, n'obtient pratiquement pas de manifestations cliniques. De même les premières tentatives de l'équipe de Rowe et Huebner (43), par inoculation intranasale furent des échecs. Cette équipe de chercheurs a repris le problème (5), avec un souci d'objectivité remarquable ; les précautions les plus minutieuses sont prises pour que l'étude soit statistiquement valable ; le médecin qui examine le sujet en expérience ignore si celui-ci est un contrôle ou s'il a été inoculé et par quelle voie ; le médecin recherche d'abord les signes objectifs, pour ne s'intéresser qu'ensuite aux signes fonctionnels ; un signe n'est retenu que si deux observateurs au moins l'ont constaté, au minimum deux jours de suite ; les examens de laboratoire sont pratiqués sans connaître les résultats cliniques. Ce souci extrême donne une valeur particulière aux résultats obtenus.

Une première série d'expériences est réalisée par inoculation intranasale de 1 ml de suspension d'adénovirus. On obtient une maladie respiratoire mineure dans environ 1/3 des cas, aussi bien chez les sujets ayant et n'ayant pas d'anticorps

avant l'inoculation et même chez les sujets inoculés avec du matériel de contrôle ; tandis que l'augmentation de l'anticorps de fixation du complément n'était constatée que chez les sujets ayant reçu des adénovirus, et surtout chez ceux n'ayant pas d'anticorps neutralisants avant l'inoculation. Les virus appartenaient aux 6 premiers types et provenaient de cultures de tissu, sauf le type 4 qui provenait d'un lavage de nez chez un malade, additionné de sérum de lapin et qui n'a pas déterminé de maladie. Malgré la preuve de l'infection apportée par l'élévation des anticorps de fixation du complément, la maladie obtenue ne peut être rapportée aux adénovirus.

Cette étude est reprise sur un plus grand nombre de sujets, avec les 3 premiers types de virus provenant de cultures de tissus, un groupe reçoit du virus de type 3 provenant de lavages de nez, deux groupes de contrôle, l'un inoculé avec du liquide d'entretien de culture de tissu non infecté, le second non inoculé. Ici encore on obtient des signes d'infection au laboratoire, surtout chez les sujets ne possédant pas d'anticorps neutralisants avant l'inoculation. La même maladie respiratoire mineure, survenant également 2 à 5 jours après l'inoculation, est obtenue dans tous les groupes. Il n'est donc pas possible de l'attribuer aux virus inoculé.

L'inoculation par aérosol conduit à un échec encore plus marqué : sur 38 sujets on n'obtient qu'une seule fois une augmentation de l'anticorps de fixation du complément, alors que dans tous les groupes on obtient une maladie respiratoire très bénigne.

L'étude est poursuivie en modifiant la voie d'inoculation (89). On pratique une inoculation combinée pharyngée et conjonctivale d'adénovirus de types 3 et 4, le type 3 provenant de gargarismes d'un sujet infecté, et de cultures en rein de singe, le type 4 de culture en rein de singe. Les inoculums additionnés d'antibiotiques n'ont pas donné de culture sur les milieux bactériologiques et n'étaient pas pathogènes pour les animaux de laboratoire. L'inoculum est déposé par badigeonnage de la conjonctive palpébrale inférieure d'un oeil, et sur le pharynx ; l'autre oeil recevant de la même manière du milieu d'entretien de culture de rein de singe dépourvu de virus. Vingt-six sur 40 sujets présentèrent dans ces conditions une conjonctivite du 2ème au 7ème jour après l'inoculation, conjonctivite de type folliculaire, qui s'étend rapidement à toute la surface conjonctivale de l'oeil inoculé, mais sans atteinte cornéenne ou uvéale ; cette conjonctivite est douloureuse (sensation de démangeaisons, de brûlure, de déchirement, de corps étrangers) ; elle s'accompagne chez 20 malades d'une angine, de toux chez 15, d'une céphalée chez 13, d'une rhinite chez 12, et quelquefois de douleurs généralisées, de raideurs de la nuque, de points thoraciques, de frissons et une sensation de malaise. Au point de vue physique, on a noté également une inflammation des îlots lymphoïdes pharyngés dans 24 cas, une adénopathie préauriculaire dans 16 cas, une inflammation de la muqueuse nasale (20 cas) avec jetage nasal (16 cas) ; dans quelques cas une hypertrophie de l'amygdale du même côté que l'oeil inoculé par le virus. Huit fois, la température s'est élevée à

37°8 ou plus. La durée moyenne de la maladie a été de 7 à 8 jours (dans quelques cas plus de 10 jours).

La conjonctivite s'est bilatéralisée deux fois, chaque fois 7 à 8 jours après l'atteinte de l'œil inoculé. Enfin, un sujet inoculé avec le type 3 a présenté 17 jours après l'inoculation un syndrome clinique et radiologique de pneumonie atypique du lobe inférieur gauche, sans que l'on puisse isoler le virus à ce moment.

Les examens de laboratoire montrent que l'on a obtenu la maladie surtout chez les sujets dont le taux des anticorps neutralisants était faible ou nul. Vingt-cinq sur vingt-six malades ont présenté une élévation du taux des anticorps neutralisants de 4 fois ou plus ; enfin on a réisolé le virus 25 fois (par écouvillonnage de l'œil ou de la gorge 5 jours après l'inoculation).

Il faut remarquer que la maladie produite est identique pour ces 2 types de virus.

Les mêmes voies d'inoculation (5) sont utilisées avec les types 1 et 5 provenant de cultures en rein de singe, avec le type 4 en cultures He La ; et l'on obtient encore la même maladie, où l'on peut réisoler le virus, et où les réponses sérologiques sont identiques, alors que le seul badigeonnage de l'oropharynx avec le type 4 ne détermine pas de maladie. L'écouvillonnage des muqueuses conjonctivale et pharyngée permet avec les types 1, 4 et 5 de provoquer la maladie chez 29 pour 32 sujets réceptifs ayant un taux faible d'anticorps neutralisants.

Enfin le type 4 est inoculé soit par écouvillonnage de la conjonctive, soit par instillation de gouttes de suspension d'adénovirus dans l'œil, chez des sujets n'ayant pas d'anticorps neutralisants pour le type 4 : la quantité de virus inoculée par ces deux modes est comparable. Huit sujets sur neuf ayant été inoculés par écouvillonnage firent une conjonctivite, et seulement 3 sur 14 ayant reçu des gouttes.

Signalons cependant que Roden (69) en inoculant 11 sujets avec de l'adénovirus de type 1 par voie nasale, a provoqué une pharyngite chez 2 sujets qui étaient les seuls à ne pas posséder d'anticorps antitype 1.

En résumé l'inoculation d'adénovirus chez des volontaires permet de reproduire une maladie expérimentale. Celle-ci est produite avec la plus grande régularité si l'on pratique une inoculation par voie conjonctivale et en provoquant un léger traumatisme au moment de l'inoculation. Les arguments sérologiques permettent de rattacher la maladie expérimentale au virus inoculé : réisolement du virus homologue le 5ème jour ou le 9ème jour après l'inoculation, réponse des anticorps fixant le complément : on n'obtient la maladie que chez les sujets n'ayant pas d'anticorps neutralisants avant l'inoculation, et leur taux s'accroît à la convalescence (3ème ou 4ème semaine).

Fait très remarquable, les cinq types d'adénovirus étudiés ont provoqué par inoculation conjonctivale une maladie identique qui ne peut être distinguée de la fièvre

pharyngo-conjonctivale survenant naturellement et qui, elle, est toujours due au type 3 (4).

B - LES SYNDROMES CLINIQUES DUS AUX ADENOVIRUS.

Alors que les faits de laboratoire donnent une unité remarquable au groupe des adénovirus, l'étude des syndromes cliniques au cours desquels on les a isolés présente une certaine confusion. Un certain nombre de syndromes ont pu être rattachés aux adénovirus de manière formelle, ou avec une très grande probabilité. Mais certains faits restent encore à éclaircir. La complexité due à l'insuffisance actuelle des connaissances est accrue encore par le fait qu'un même type d'adénovirus peut être responsable de syndromes différents, et que d'autre part un même syndrome peut être provoqué par plusieurs types. Nous étudierons les faits actuellement connus en les groupant selon les syndromes réalisés, en suivant le plan adopté par Rowe et Huebner dans une publication récente (75).

Auparavant, rappelons que les éléments suivants permettent de rendre responsable un virus nouvellement isolé d'un syndrome clinique (Ginsberg (23)).

1° - Isolement de l'agent chez un grand nombre de malades, isolement à partir du tissu infecté, ou des sécrétions provenant de ce tissu.

2° - des anticorps spécifiques actifs vis-à-vis de cet agent doivent se développer parallèlement à l'infection.

3° - La résistance à l'infection doit être en corrélation avec la présence d'anticorps spécifiques de type (neutralisants) ; à l'inverse, la réceptivité doit être en relation avec l'absence ou un faible taux de ces anticorps spécifiques.

La reproduction de la maladie expérimentalement apporte la preuve formelle.

1) Les épidémies de maladies respiratoires en milieu militaire :

C'est au cours d'une telle épidémie que Hilleman a pu isoler la souche RI 67 (32, 34). Les études sérologiques entreprises dès lors ont permis d'affirmer le rôle étiologique de cette souche, devenue le prototype du type 4, études de Hilleman, confirmées par Ginsberg (23), par Berge (8), ainsi que par les travaux de Rowe Huebner et coll. Ces divers travaux mettent en évidence, au cours de foyers épidémiques semblables le rôle étiologique du type 3, et d'un nouveau type, le type 7 (8). La recherche de l'étiologie de ces maladies était d'ailleurs menée depuis plusieurs années, en particulier par la Commission des Maladies Respiratoires aiguës de l'armée américaine (14 et 15).

Ces syndromes respiratoires surviennent dans les premières semaines de l'entraînement des jeunes recrues, particulièrement pendant les mois d'hiver et de printemps, et les recrues peuvent présenter des taux de morbidité très élevés. Pendant une telle période d'entraînement, 77 % des hommes ont présenté une élévation significative du taux des anticorps de fixation du complément, et parmi ceux-ci 1/4 ont dû être hospitalisés, 1/4 ont été

soignées à titre externe à l'infirmierie, les autres n'ayant présenté aucun signe clinique (35), et ceci en huit semaines. Très rapidement d'ailleurs, le taux de morbidité décroît. Pendant les mois d'été, on note seulement une augmentation des anticorps chez 10 % des recrues. Il faut noter que ces épidémies n'ont pas la brusque intensité des épidémies de grippe et sont plus étalées dans le temps.

Les tableaux cliniques réalisés sont assez variables, le plus grave étant réalisé par un syndrome de pneumonie atypique, le plus fréquent étant la "maladie respiratoire aiguë", le nombre des infections inapparentes étant très élevé. Le syndrome de pneumonie atypique se surajoute d'ailleurs au tableau de maladie respiratoire aiguë (M.R.A.) qui présente une note de gravité un peu plus accentuée.

La M.R.A. réalise un tableau banal. La période d'incubation est d'environ 5 à 7 jours. Le début est le plus souvent progressif. Les malades se plaignent d'une toux sèche, d'une rhinite légère, et d'une voix légèrement rauque. Les frissons sont très fréquents ; moins souvent surviennent une céphalée fronto-temporale et des myalgies.

L'intensité de la fièvre est très variable, pouvant atteindre 40° et même 40°8 lorsqu'une PAP se surajoute.

La toux est rapidement productive.

A l'examen, on note surtout une angine érythémateuse, qui intéresse la paroi postérieure du pharynx, les piliers de l'amygdale, la luette. On note rarement l'existence d'un exsudat muco-purulent.

Lorsque survient une pneumonie atypique,

celle-ci est marquée à la fois par des signes physiques et radiologiques, qui ne présentent aucune particularité permettant de la distinguer des pneumonies atypiques d'autre étiologie, ou d'étiologie encore inconnue. La maladie banale dure une dizaine de jours, une vingtaine de jours lorsqu'elle se complique de pneumonie atypique.

Les examens de laboratoire montrent inconstamment une hyperleucocytose. Les examens bactériologiques ne mettent pas en évidence de germes pathogènes. Au point de vue sérologique on note une élévation des anticorps neutralisants et de fixation du complément, et les épreuves sérologiques des autres maladies virales sont négatives. De plus, dans les syndromes de PAP, la réaction des agglutinines froides et l'épreuve d'agglutination du streptocoque MG sont toujours négatives.

Sur un échantillonnage de 100 malades, Hilleman a trouvé 16 cas de PAP (34). Il semble que cette épidémie ait été particulièrement grave.

Il faut insister sur le fait que l'intensité de la maladie et la distribution des symptômes sont très variables. Berge (8) a pu ainsi diviser ses malades en six groupes : PAP, bronchite, angine, rhume banal fébrile, amygdalite, et affection des voies respiratoires supérieures.

Enfin il faut remarquer que les différents types de virus responsables de ces syndromes sont les types 3, 4, et 7, le type 3 étant le moins fréquemment rencontré dans ce type de population 14 % des cas de Berge, le type 4 et le type 7,

43 % des cas chacun. De plus, le type 4 est le plus volontiers associé aux affections des voies respiratoires basses, et le type 7 aux voies hautes.

En dehors de son étiologie, ce type de maladie mérite d'être isolé non par son tableau clinique qui ne permet pas de le distinguer des autres affections respiratoires saisonnières, mais par sa physiologie épidémiologique, posant des problèmes aux médecins militaires.

2) Affections respiratoires de la population générale :

Ici les données actuelles ne permettent pas encore d'établir des conclusions fermes sur "la place qu'il convient d'assigner aux virus du groupe APC (adénovirus) dans l'immense collection de maladies des voies respiratoires, à symptomatologie et épidémiologie également confuses, qui représentent sans doute la cause principale de morbidité dans nos climats.

L'évaluation de ce rôle ne peut se faire que par l'étude systématique d'un nombre suffisant d'individus suivis régulièrement pendant une longue période, dans le milieu familial, scolaire ou professionnel, le diagnostic clinique étant confronté chaque fois avec les résultats du laboratoire de virologie". Werner G. (90).

Cependant l'étude des anticorps dans la population générale, permet de penser que les adénovirus sont responsables d'une proportion non négligeable de ces syndromes, et tout particulièrement chez les enfants.

Leur rôle étiologique a été bien établi dans quelques cas pour les types 1, 2 et 5. Par exemple, Rowe, Huebner et coll. (75) ont tenté depuis deux ans sans interruption des isolements de virus au cours des affections respiratoires, principalement chez les enfants, dans la région de Washington. Un certain nombre de souches (31) ont été isolées en relation temporelle étroite avec des maladies respiratoires, le plus souvent chez des enfants de moins de 4 ans qui présentaient des angines fébriles, ou des coryzas fébriles.

Il faut remarquer que les types 4 et 7 très fréquemment observés dans les populations militaires ne le sont pas dans la population civile, bien que des civils sans expérience militaire présentent des anticorps spécifiques de ces types.

Une étude de Jordan sur 54 familles de Cleveland (51), une de Werner G. sur 60 familles de Philadelphie (90), une de Price sur 2.015 étudiants, ne permettent de reconnaître un rôle étiologique des adénovirus que dans une très faible proportion des maladies respiratoires (2 à 4 %), ce qui semble indiquer que "les cas sporadiques sont rares et que la présence fréquente des anticorps est la conséquence d'une série d'épidémies localisées, survenant à des intervalles encore mal définis." (90).

Cependant le type 3 a été reconnu être l'agent étiologique d'une affection bien définie cliniquement, nommée par Bell, Rowe et Huebner et coll. (4) fièvre pharyngo-conjonctivale. Cette nouvelle entité clinique a été décrite à l'occasion

d'une épidémie survenue dans une collectivité d'enfants dans la région de Washington pendant l'été de 1954, dans deux autres foyers sans rapports entre eux, et dans un certain nombre de cas sporadiques.

L'incubation est de 5 à 6 jours.

Dans les cas typiques cliniquement s'associent une conjonctivite, une angine et de la fièvre. La température atteint souvent 40° et cette fièvre dure de 1 à 10 jours pour descendre ensuite en lysis. L'angine est assez discrète, le malade se plaignant d'une sensation de gêne ou de picotement, plutôt que d'une véritable dysphagie ; à l'examen de la gorge, peu de choses en dehors d'une rougeur de la paroi pharyngée. Une adénopathie sous-angulo-maxillaire est fréquente (même en l'absence d'angine). La conjonctivite dure de quelques jours à trois semaines. Elle s'objective par une rougeur des conjonctives bulbaire et palpébrale, et elle est le plus souvent monoculaire. On ne note que très rarement un exsudat purulent alors qu'un exsudat séreux collant les deux paupières et une augmentation de la sécrétion lacrymale sont plus fréquents. Cette conjonctivite est de type folliculaire. Elle s'accompagne d'une sensation de gêne, très exceptionnellement d'une photophobie et d'une douleur rétro-orbitaire. On note parfois une adénopathie préauriculaire non douloureuse. Enfin, plusieurs semaines après la convalescence on n'a jamais remarqué d'atteinte uvéale ou cornéenne.

Une otite moyenne non purulente a compliqué le tableau quelquefois une céphalée, une certaine torpeur sont très fré-

quentes à la fin de la période fébrile. La toux, des manifestations pleuropulmonaires, des rashes cutanés sont rares. Surtout chez des adultes, on a rencontré quelquefois des douleurs musculaires, articulaires, osseuses, une asthénie.

Cette association de conjonctivite - angine - fièvre réalise un tableau assez typique, permettant d'évoquer assez facilement le diagnostic clinique de fièvre pharyngo-conjonctivale. Malheureusement, l'association n'est typique que dans environ un tiers à la moitié des cas, chaque signe pouvant survenir seul, ou manquer seul, aussi le diagnostic est-il alors très difficile en dehors des cas épidémiques, où seuls les examens de laboratoire permettent de le poser, comme il a permis d'attribuer la responsabilité de ce syndrome au type 3 en permettant d'isoler le virus des prélèvements oculaires, pharyngés et anaux, du 1^{er} au 10^{ème} jour de la maladie dans une très grande proportion des cas étudiés, qui ont également présenté une élévation des anticorps neutralisants spécifiques et des anticorps fixant le complément.

Dans cette étude, la maladie est survenue dans une collectivité d'enfants sous forme épidémique et a atteint un pourcentage très élevé des sujets (plus du tiers). Il semble que le mode de contagion se fasse de personne à personne. La responsabilité des piscines avait été incriminée, mais nous avons vu qu'une eau convenablement chlorée (11) ne contient vraisemblablement pas d'adénovirus de type 3. Aussi, et en s'appuyant sur la facilité de reproduire cette maladie expérimentalement par la voie conjonctivale, incrimina-t-on l'irritation conjonctivale due au bain.

Ce syndrome pharyngo-conjonctival avait d'ailleurs été déjà isolé par quelques auteurs (Cockburn (12), Derrick). L'isolement original d'adénovirus de Nova et Enders (60) avait été réalisé au cours d'une maladie semblable à laquelle s'ajoutait une éruption cutanée. Il faut signaler qu'une étude sérologique de sérums représentatifs de l'épidémie décrite par Cockburn a permis d'incriminer la responsabilité du type 3 (13).

Remarquons que ce syndrome, dont on ne connaît pas encore la fréquence actuelle, ressemble d'une manière absolue à la maladie expérimentale réalisée par l'inoculation conjonctivale des cinq premiers types d'adénovirus. De plus, lorsque manque la conjonctivite, le tableau réalisé est très voisin de la maladie respiratoire aiguë décrite en milieu militaire. Ceci donne une certaine unité clinique aux syndromes réalisés par les adénovirus.

3) Les affections oculaires.

Rappelons que la conjonctivite due au type 3, peut survenir seule au cours des épidémies de fièvre pharyngo-conjonctivale. Des atteintes oculaires différentes ont été décrites au cours d'infections avec le type 3. Au cours des épidémies décrites par Cockburn, et par Ormsby (61), des opacités cornéennes superficielles transitoires ont été décrites dans certains cas. De même Ormsby a pu expérimentalement reproduire ces opacités avec le type 3, ce qui n'est jamais survenu dans l'expérimentation de Rowe et Huebner.

On a également isolé des adénovirus au cours de conjonctivite, 2 souches de

type 6 chez l'adulte (Jawetz, non publié), de type 4, et le type 10 a été isolé une seule fois chez un enfant présentant une conjonctivite granulaire du tarse de la paupière supérieure.

Le type 8 isolé par Jawetz (46, 47, 48, 49) semble devoir être reconnu comme l'agent responsable de la kératoconjonctivite épidémique. L'incubation dure 7 à 10 jours ; après laquelle se développe une conjonctivite folliculaire intense, avec : parfois, formation de fausses membranes, et elle s'accompagne d'une adénopathie préauriculaire. Dans la majorité des cas, 5 à 10 jours plus tard, surviennent des lésions cornéennes ayant l'aspect de petites opacités rondes, sous-épithéliales, ne s'accompagnant pas d'ulcération superficielle ni de diminution de la sensibilité cornéenne. Ces opacités peuvent persister plus de 2 ans et atteindre la vision de manière importante.

Cette maladie est survenue en grandes épidémies en Europe, en Extrême-Orient, à Hawaï, et sur la côte Pacifique des Etats-Unis. On en rencontre des foyers sporadiques de temps en temps dans le monde entier.

Une étude des anticorps neutralisants (49) a été pratiquée chez 70 malades atteints de kérato-conjonctivite épidémique (dont 60 étaient cliniquement typiques) ; les sérums provenaient de plusieurs états des U.S.A., du Canada, de Suisse, d'Italie, et du Japon. Ils ont été testés contre la souche du cas princeps de Jawetz : 87 % des cas typiques avaient des anticorps neutralisants à un taux $\geq 1/20$, et

80 % des cas atypiques. Quant aux 140 contrôles, 2 % seulement avaient un tel taux. Il semble que le taux maximum de ces anticorps soit atteint en 3 à 6 semaines après le début (1/40e à 1/160e), puis après quelques semaines pendant lesquelles il s'est maintenu, le taux baisse progressivement et cette évolution rend vraisemblablement compte du faible taux rencontré lorsque le sang est prélevé plus de 6 mois après le début.

Cette étude a montré de plus l'absence d'élévation hétérotypique des anticorps pour le type 3 au cours des kératoconjunctivites épidémiques. Dix cas d'infection à adénovirus des types 2, 3 et 6 n'ont pas présenté d'élévation de l'anticorps de type 8.

Des expériences actuellement en cours d'isolement du type 8 au cours d'épidémies de kératoconjunctivites, et l'essai de reproduire la maladie expérimentalement permettront de confirmer, ou d'infirmer la relation étiologique entre ce syndrome et l'adénovirus de type 8.

Il faut signaler qu'un certain nombre de virus ont déjà été incriminés dans la responsabilité de cette maladie, mais sans preuves satisfaisantes.

4) Maladies du tissu lymphoïde :

Kjellen à Stockholm a isolé les types 3 et 5 de ganglions mésentériques et de selles (52) d'enfants atteints d'adénite mésentérique aiguë, tandis que les anticorps fixant le complément ou neutralisants présentaient une élévation significative de leur taux. Il nous semble qu'il serait

intéressant de poursuivre plus avant l'étude des cas d'adénite mésentérique aiguë afin d'établir le rôle étiologique possible des adénovirus. Rappelons que dans les jours qui précèdent l'apparition des signes abdominaux, on note très souvent l'existence d'un syndrome respiratoire analogue à celui de la maladie respiratoire aiguë et que cette maladie prend souvent une allure épidémique.

Il faut signaler ici l'isolement par Rowe (75) d'un adénovirus de type 3 au niveau des ganglions mésentériques et des poumons d'un enfant mort de la maladie de Letterer-Siwe (75), et l'isolement princeps de la souche D.C. d'un cas mortel de réticulo-endothéliose qui ressemblait à la maladie de Niemann-Pick.

Nous étudierons également dans ce chapitre le problème de la persistance des adénovirus au niveau des amygdales et des végétations adénoïdes. L'isolement des adénovirus est possible à partir d'une très grande proportion de ces tissus obtenus après ablation chirurgicale dont l'indication a été portée devant leur hypertrophie. Rowe et Huebner isolent dans 91 % de ces cas les types 1, 2 et 5. Cependant dans quelques cas il s'agit des types 4 et 3 plus récemment. Ce sont également ces types qui ont été isolés en Angleterre (Zaimann (96)). Mais l'isolement des virus ne peut être réalisé qu'après un démasquage par culture du tissu infecté ; ce n'est que rarement qu'on peut l'isoler à partir d'une suspension du tissu, et jamais par écouvillonnage de la gorge au moment de l'intervention. On ne peut préciser actuellement le rôle des adénovirus dans le déterminisme de cette hypertrophie des

tissus amygdalien et adénoïdien. Mais il est certain qu'ils persistent ainsi à l'état latent chez de nombreux individus et Hilleman (35) estime que "l'activation possible d'un virus latent, "masqué" chez des individus en bonne santé peut aussi constituer un réservoir d'infection".

Enfin une certaine unité clinique entre les diverses affections dues aux adénovirus peut être trouvée dans la fréquence des réactions du tissu lymphoïde au cours de ces maladies. Qu'il s'agisse de conjonctivite, celle-ci s'accompagne d'une adénopathie préauriculaire aussi bien pour le type 3 dans la fièvre pharyngo-conjonctivale, que pour le type 8 dans la kérato-conjonctivite épidémique ; on retrouve une adénopathie sous-angulo-maxillaire dans les cas de maladie respiratoire aiguë présentant une angine. Dans tous les cas, l'atteinte du tissu se manifeste par une réaction des flots lymphoïdes sous-muqueux qui a été constatée par l'anatomo-pathologie. Et l'adénopathie est la manifestation principale de l'adénite mésentérique aiguë. Et cette atteinte se retrouve aussi bien dans les cas spontanés qu'au cours de la maladie expérimentale.

C - EPIDEMIOLOGIE.

Au cours de l'étude des syndromes cliniques un certain nombre de faits épidémiologiques ont été envisagés. C'est ainsi que nous savons déjà que les épidémies de maladie respiratoire aiguë en milieu militaire surviennent au début de la période d'entraînement, que la durée de ces épidémies est plus étalée que celles dues aux virus grippaux. Les épidémies de fièvre pharyngo-conjonctivale ont la même physio-

nomie. Dans ces deux cas l'existence d'un milieu relativement fermé semble être un facteur favorable à l'éclosion d'épidémies. La fièvre pharyngo-conjonctivale survient plus volontiers l'été, la maladie respiratoire, l'hiver.

La période de contagiosité est indiquée par la durée où l'isolement des virus est possible. Pour la fièvre pharyngo-conjonctivale elle est d'une dizaine de jours (4), période qui débute en même temps que les signes cliniques. Le mode de contagion (4 et 35) semble se faire de personne infectée à personne réceptive. Le réservoir de virus semble exclusivement humain, la réactivation d'un virus latent pouvant jouer un certain rôle.

La porte d'entrée du virus n'a pas été précisée par les auteurs, en dehors de la fièvre pharyngo-conjonctivale où la conjonctive est très vraisemblablement en cause, comme le suggèrent de plus les études sur la maladie expérimentale. Le fait qu'au cours de ce syndrome on rencontre assez fréquemment une amygdalite du même côté que l'oeil inoculé et souvent un syndrome respiratoire suggère que la conjonctive pourrait être la porte d'entrée principale des adénovirus.

Les nombreuses études sérologiques qui ont été réalisées ont fourni un certain nombre de renseignements d'ordre épidémiologique.

L'état de réceptivité d'un sujet pour un type est indiqué par l'absence d'anticorps neutralisants vis-à-vis de ce type, ou par un faible taux de ces anticorps,

tandis que la présence à un taux quelconque des anticorps de fixation du complément ne permet aucune prévision.

Une étude de Rowe et Huebner sur la répartition des anticorps neutralisants au sein d'une population de la région de Washington (75) montre que ces anticorps sont présents dans tous les groupes d'âge, la fréquence des anticorps contre les différents types croissant d'ailleurs avec l'âge. Les nouveau-nés présentent des taux d'anticorps neutralisants et de fixation du complément comparables à ceux de leur mère ; à l'âge de six semaines, les anticorps de fixation du complément ont disparu tandis que les anticorps neutralisants sont encore décelables. A un an, on ne rencontre des anticorps neutralisants que si des anticorps de fixation du complément sont réapparus ; ils sont alors le témoin d'une infection subie par l'enfant. Entre 6 et 12 mois, plus de la moitié des enfants a des anticorps contre au moins un type (il s'agit habituellement des types 1 et 2).

La fréquence des anticorps croît progressivement et sur 50 personnes de 31 à 77 ans toutes ont des anticorps contre au moins un type et 72 % en ont contre au moins 4 des 6 types testés.

Ce sont les anticorps contre les types 1 et 2 qui sont les plus fréquemment répandus, les types 3 et 6 sont les plus rares. Quant au type 4 sa fréquence passe de 25 % du groupe d'âge de 6 à 15 ans à 71 % dans le groupe de 16 à 34 ans.

Une meilleure connaissance de la durée de la persistance des anticorps permettra de connaître la fréquence réelle des

infections à adénovirus.

Si les premières études ont été réalisées aux U.S.A., des études comparables ont été réalisées dans le monde entier, qui permettent d'affirmer l'ubiquité des adénovirus (Canada, Ormsby (61), Afrique du Sud, Westwood (92), Russie (Smorodintsev, cité par Rowe et Huebner (75), au Japon (cité par Jawetz (49), en Europe : Royaume-Uni, Andrews (1), Balducci (2), en Suède, Kjellen (52), en Italie, Pennachio (65), Boemi (9), Rolli (70), en Allemagne, Munne (59), Glander (27), Breckhoff (10), en Hollande, Van der Voën, cité par Rowe et Huebner (75), enfin un certain nombre de travaux français Farski (3), Lépine (54 et 55) et Sohler (80) ont aussi démontré la présence en France des adénovirus.

Au total, les adénovirus semblent être très largement répandus tant géographiquement que dans les différents groupes d'âge ; les maladies qu'ils déterminent surviennent par épidémies, par prédilection dans les collectivités. Il ne semble pas y avoir eu récemment de grandes épidémies dans la population générale et les cas sporadiques y sont peu fréquents.

Mais les études épidémiologiques sont encore fragmentaires, et la plupart des problèmes épidémiologiques méritent d'être étudiés plus avant.

D - PROPHYLAXIE .

C'est le taux élevé de morbidité des jeunes recrues pour les infections à adénovirus qui a incité les deux groupes de chercheurs de Millemann et coll. d'une part,

de Rowe et Huebner et coll. d'autre part à préparer un vaccin contre les types d'adénovirus responsables de ces infections (type 3, 4 et 7) ; en l'état actuel des connaissances épidémiologiques la vaccination de la population civile contre le type 3 ou d'autres types est naturellement tout à fait prématurée.

Dans le but de préparer de tels vaccins, les différents auteurs ont adapté les virus en culture de rein de singe. Hartley, Rowe et Huebner (31) ont réalisé cette adaptation pour les sept premiers types. Ces souches n'ont à aucun moment été cultivées sur des tissus cancéreux.

Le premier vaccin étudié (Huebner, Bell et coll. (44)) a été préparé avec une souche appartenant au type 3, et l'inactivation du virus a été réalisée soit par chauffage à 56° pendant 30', soit par addition de formol à une concentration de 0,25 %. Les contrôles de sécurité habituels sont pratiqués (test d'infectiosité en cellules He La, tests cultureux pour en prouver la stérilité bactériologique, inoculation aux animaux de laboratoire pour confirmer son absence de pouvoir pathogène). Ces 2 types de vaccins sont inoculés au lapin et permettent d'obtenir ainsi des sérums ayant des taux d'anticorps neutralisants de 1/640 pour le vaccin formolé. Quarante cinq volontaires sont vaccinés soit par 3 injections de vaccin formolé, soit par une injection unique, soit par 3 injections de vaccin chauffé. Ce vaccin a déterminé l'apparition d'anticorps neutralisants à un taux $> 1/80$ chez 78 % des vaccinés. Ces sujets, et un groupe de contrôle ont été ensuite soumis à une inoculation conjonctivale de virus 3 vivant.

Les sujets ayant des anticorps post-vaccinaux ont été protégés à la fois contre l'infection et la maladie expérimentale mieux que les sujets vaccinés ou non n'ayant pas d'anticorps avant l'inoculation. Cette protection provoquée est presque aussi grande que la protection qui accompagne la présence d'anticorps naturellement acquis.

Les mêmes auteurs (6) ont préparé un vaccin trivalent (contre les types 3, 4 et 7) de manière commerciale, par inactivation au formol. Ce vaccin a été expérimenté sur 4000 recrues de la Marine, comparativement à 12.000 témoins, par inoculation intramusculaire (dans le deltoïde) de 2 ml de la suspension vaccinale ; le nombre des sujets vaccinés qui peut paraître faible a été calculé pour que la vaccination s'ajoutant à l'immunité naturelle d'un certain nombre de sujets, ne risque pas de provoquer d'immunité de groupe. Le laboratoire a montré que cette vaccination faisait apparaître un taux substantiel d'anticorps neutralisants pour les types 3, 4 et 7. Bien que les résultats cliniques de cette expérience n'aient pas été entièrement dépouillés, cette vaccination semble avoir déterminé une réduction de 50 à 75 % du nombre des maladies respiratoires auquel on pouvait s'attendre. Les maladies à adénovirus rencontrées au cours de cette expérience étaient dues au type 4, ce qui permet d'affirmer déjà que le vaccin est efficace contre ce type.

Les études de Hilleman (40 et 41) aboutissent à des résultats comparables. Sur 311 recrues vaccinées, seulement 4,8 % furent hospitalisées pour maladie respiratoire aiguë, tandis que 11 étaient

23,8 % de 313 témoins non vaccinés. Hilleman a également noté qu'une injection unique (de 1 ml par voie intramusculaire) déterminait la formation d'un taux substantiel d'anticorps neutralisants, et que les injections répétées ne donnaient pas de meilleurs résultats que l'injection unique.

Quelques remarques de Hilleman au cours de cette étude méritent d'être rapportées. Le vaccin employé est préparé avec les types 4 et 7 et il a remarqué que ce vaccin déterminait non seulement une réponse des anticorps homologues contre ces deux types, mais encore une réponse hétérologue de l'anticorps de type 3.

De plus la réponse de l'anticorps neutralisant (et la protection parallèle contre l'infection à adénovirus) est obtenue en une semaine et cette réponse présente ainsi le caractère d'une réponse anamnестique, qui est confirmée par l'absence d'augmentation des anticorps après les injections ultérieures de vaccin ; comme si le taux des anticorps atteignait son maximum dès la première injection de vaccin.

- V -

LES FAITS PRATIQUES

-:-

Bien que les connaissances actuelles sur les adénovirus soient encore fragmentaires pour un certain nombre de points, ce nouveau groupe de virus présente dès maintenant un intérêt certain.

La technique d'isolement en culture de tissu s'étant ainsi montrée fructueuse, elle peut inciter les chercheurs à utiliser encore plus largement ce nouveau moyen d'investigation.

Leurs caractères biologiques sont bien particuliers, mais cependant du point de vue dogmatique, l'existence de deux types d'antigènes, antigène de fixation du complément spécifique de groupe ayant les caractères des antigènes solubles, et antigène neutralisant spécifique de type, permet de les rapprocher des virus connus antérieurement. La fixité des types les oppose aux virus grippaux. La concordance entre l'état d'immunité et la présence d'anticorps neutralisants présente un intérêt épidémiologique considérable.

Il faut noter que les types récents, découverts après le type 7, n'ont pas été étudiés aussi minutieusement que les

premiers. Leur caractères généraux semblent jusqu'à présent être les mêmes, si l'on excepte la lenteur de croissance de la souche D.C., et l'affinité particulière des souches d'origine simienne pour les cultures de tissus de singe.

La découverte d'anticorps de fixation du complément naturels dans le sérum de cobayes et de chimpanzé permet d'envisager la possibilité que les adénovirus jouent un rôle en pathologie vétérinaire.

La place exacte des adénovirus en pathologie humaine n'est pas encore précisée. En tous cas, cette étiologie n'est probablement responsable que d'une partie seulement des affections respiratoires à allure saisonnière de la population générale. Il est vraisemblable cependant que les adénovirus ont été responsables de grandes épidémies, comme le suggèrent les brusques variations dans les groupes d'âge de la fréquence des différents anticorps neutralisants. L'impression de bénignité des affections dues aux adénovirus qui se dégage de l'ensemble des travaux américains n'est peut-être pas exacte. Une publication française récente (Lelong, Lépine et coll. (55), et Lépine (54)) relate un cas de pneumo-encéphalite aiguë mortelle où l'on a pu isoler le virus des viscères après la mort, ce qui indique la nécessité d'études des syndromes respiratoires, d'étiologie indéterminée chez les très jeunes enfants.

Il est possible de plus que l'usage intensif des antibiotiques en général augmente la fréquence des affections virales et celles dues aux adénovirus en particulier.

L'affinité particulière des adénovirus pour les cellules cancéreuses. He La a incité deux groupes d'auteurs (Southam, Hilleman et coll. (83) et Smith, Huebner, Rowe et coll. (78)) à tenter d'infecter des cancéreux, dans un but thérapeutique, avec des adénovirus. Ces deux études n'ont pas révélé de propriétés anticancéreuses nettes.

Pour conclure cette étude, nous envisagerons deux problèmes pratiques, d'une part l'identification d'un virus inconnu, d'autre part le diagnostic d'une affection due aux adénovirus.

Pour le premier problème, nous indiquons la technique employée par Rowe et Huebner (74): "L'attribut essentiel du groupe est l'antigène de fixation du complément. Cet antigène n'est pas porté par d'autres virus connus et l'anticorps spécifique n'est produit dans aucune autre maladie connue. La recherche de cet antigène se fait en déterminant son titre à l'aide d'un mélange de sérums humains convalescents ayant un haut titre d'anticorps fixant le complément pour l'antigène de groupe. Quatre unités de l'antigène à classer sont ensuite utilisées pour tester les sérums couplés d'au moins 4 sujets que l'on sait avoir été contaminés par différents types d'adénovirus, chacun ayant une augmentation de 8 fois au moins du titre contre l'antigène du type responsable de l'infection. Lorsque 3 au moins des 4 sérums-tests montrent une augmentation du taux de 4 fois ou plus contre l'antigène à classer, le nouvel agent peut être presque certainement considéré comme appartenant au groupe des adénovirus. Les virus sont identifiés par le test de neutralisation. De nouveaux types sérologiques sont établis lorsque les

tests de neutralisation réciproques avec des sérums de lapins hyperimmunisés, l'adénovirus à classer est trouvé sérologiquement différent des types existants. On recherche pour chaque prototype nouveau les autres propriétés des adénovirus (résistance à l'éther, effets cytopathogènes pour les cultures de cellules He La, cultures de rein de singe trypsinisées et cultures en explant d'épithélium humain embryonnaire, absence de pouvoir pathogène pour la souris nouveau-née et adulte, pour le lapin inoculé par différentes voies".

Rappelons que Barski (3) a décrit des différences dans les effets cytopathogènes des souches 1, 3, 4 et 5, différences qui peuvent donner une confirmation au test de neutralisation.

Le diagnostic clinique d'une affection due aux adénovirus ne peut actuellement être posé que dans certains cas privilégiés, soit au cours d'une épidémie au début de laquelle le diagnostic a été établi grâce aux épreuves de laboratoire, ou dans un syndrome pharyngo-conjonctival typique, et sans doute dans la kératoconjonctivite épidémique. Dans les cas de maladie respiratoire aiguë, qui représentent vraisemblablement la masse la plus importante d'affections dues aux adénovirus, seule l'atteinte presque constante des éléments lymphoïdes au niveau de la région atteinte, et les adénopathies régionales avec leur caractère non douloureux pourraient donner une indication qui reste bien faible.

Ainsi, dans la plupart des cas, c'est au laboratoire qu'il appartient de faire le diagnostic.

Le diagnostic positif est apporté par l'augmentation d'au moins 4 fois du taux de l'anticorps de fixation du complément entre le sérum de phase aiguë et le sérum de convalescence. Nous avons déjà insisté sur la simplicité de la réaction et sur sa spécificité.

Signalons que dans le compte rendu anatomo-pathologique du cas mortel de Lelong et coll. (55), ces auteurs ont trouvé dans l'exsudat intra-alvéolaire de grandes cellules mononucléées présentant des lésions rappelant des cellules des cultures de tissus infectées par les adénovirus. Nous pensons qu'il serait intéressant de rechercher, au moins dans les cas présentant un syndrome de pneumonie atypique, de telles cellules dans l'expectoration, ce qui serait un appoint non négligeable au diagnostic.

Le diagnostic différentiel se pose essentiellement dans les cas de maladie respiratoire aiguë. Au cours des affections dues aux adénovirus, les examens de laboratoire de routine n'ont montré la coexistence d'une élévation significative du taux des anticorps de fixation du complément pour le groupe des adénovirus, et d'une preuve d'une autre infection que dans de rares cas qui correspondent très probablement à la coïncidence ou à la succession de ces deux infections. En règle générale, dans les infections à adénovirus on n'isole jamais de germes pathogènes, en particulier de streptocoques. La recherche des antistreptolysines y est négative. Les recherches concernant la grippe (inoculation en oeuf incubé, test d'inhibition de l'hémoagglutination) y sont négatives. De même, il n'y a pas d'anticorps de fixation du complément pour la fièvre Q et le

groupe psittacose-ornithose-lymphogranulomato-
matose vénérienne. Au cours des syndromes
de pneumonie atypique ayant des signes
sérologiques d'infection à adénovirus,
les tests précédents sont également négatifs,
et de plus ne s'accompagnent jamais de la
présence d'agglutinines froides ou d'agglutinines
pour le streptocoque MG. Si au cours d'un
syndrome pharyngo-conjonctival on évoquait le
diagnostic de leptospirose, ce diagnostic
serait infirmé par la négativité des tests
d'agglutination-lyse des différents leptospires.
De la même manière, dans les conjonctivites à
adénovirus, les frottis conjonctivaux ne
montrent pas de corps d'inclusion par la
coloration de Macchiavello. L'isolement
de virus coxsackie des selles de sujets
atteints de maladie à adénovirus, ne se
rencontre avec la même fréquence que
dans la population générale.

Le diagnostic étiologique du type en
cause ne peut être réalisé que par les
tests de neutralisation dont nous avons
déjà signalé la difficulté pratique,
réservant ce diagnostic aux laboratoires
spécialement équipés pour cette étude.

CONCLUSIONS

—:—

Ce travail, qui est une revue de la littérature consacrée aux adénovirus, se propose de faire une mise au point des propriétés de ce groupe de virus récemment découvert.

L'ensemble de leurs propriétés biologiques générales apparaissent bien définies : pouvoir cytopathogène spécifique pour un certain nombre de types de cultures de tissus, se manifestant essentiellement au niveau du noyau, absence de pouvoir pathogène pour les animaux de laboratoire et absence de culture en oeuf embryonné, résistance à l'éther et aux antibiotiques, sensibilité à la chaleur, existence d'un antigène de fixation du complément commun au groupe, de caractère soluble, s'opposant à l'antigène de neutralisation qui est spécifique de type et a permis de décrire actuellement 14 types dont 12 d'origine humaine, de nouveaux types étant en cours de classification. Par contre, leur pouvoir pathogène n'est pas encore complètement précisé. Néanmoins ils présentent un tropisme marqué pour le tissu lymphoïde qui se rencontre dans toutes les affections (maladie respiratoire aiguë en milieu militaire, fièvre pharyngo-conjonctivale,

kérato-conjonctivite épidémique) qui peuvent leur être attribuées dès maintenant. Un vaccin efficace contre les types 3, 4 et 7 a déjà été expérimenté. La réaction de fixation du complément représente un moyen, simple et spécifique, de faire la preuve d'une infection à adénovirus et elle mérite d'entrer prochainement dans la pratique courante de laboratoire.

-: -

Vu :
Le Président :
signé : R. FASQUELLE

Vu :
Le Doyen :
signé: L. BINET

Vu et Permis d'Imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris
signé : Jean SARRAILH.

BIBLIOGRAPHIE

—:—

- 1 -- ANDREWS B.E., Mc DONALD J.C.,
THORNBULN W.B., WILSON J.S.
Respiratory virus infections in
RAF 1954-5, with particular refe-
rence to influenza and APC viruses
Brit. med. J. , 1956 pp. 1203-1207
- 2 -- BALDUCCI D., ZAIMAN E. et TYRRELL D.A.J.
Laboratory studies of APC and in-
fluenza C viruses
Brit. J. exp. Path. 1956 vol. 37
pp. 205-218
- 3 -- BARSKI G.
Caractère spécifique de la lésion
cellulaire causée in vitro par les
virus du groupe APC et sa valeur
diagnostique
Ann. Inst. Pasteur 1956 vol. 91
pp. 614 18
- 4 -- BELL J.A., ROWE W.P., ENGLER J.I.,
PARROTT R.H. et HUEBNER R.J.
Pharyngo conjonctival fever ; epide-
miological studies of a recently
recognized disease entity
J. Amer. Med. Ass. 1955 vol. 157
pp. 1083-1092

- 5 - BELL J.A., WARD T.G., HUEBNER R.J.,
ROWE W.P. et coll.
Studies of adenoviruses (APC) in
volunteers
Am. J. publ. Hlth 1956 vol. 46
pp. 1130-1146
- 6 - BELL J.A., HANTOVER M.J., HUEBNER R.J.
et LOOSLI C.G.
Efficacy of trivalent adenovirus
(APC) vaccine in naval recruits
J. Amer. med. Ass. 1956 vol. 161
pp. 1521-1525 9
- 7 - BENGTSON I.A.
Complement fixation in the rickettsial
diseases technique of the test
Pub. Health. Rep. 1944 vol. 59
pp. 402-405
- 8 - BERGE T.O., ENGLAND B., MAURIS C.,
SHUEY H.E. et LENNETTE E.H.
Etiology of acute respiratory disease
among service personnel at Fort Ord,
California
Amer. J. Hyg. 1955 vol. 62 pp. 263-
294 17
- 9 - BOEMI G. et MONGIA L.
Presenza di alcuni casi di faringite
acuta da virus APC in Roma
Policlinico (Sez prat.) 1956 vol. 63
pp. 1533-1536
- 10 - E. BRECKOFF
Bericht über eine durch der APC-
Virus herborgerufene Epidemie
Dtsch. Med. Wsch. 1956 vol. 81/2
pp. 1149-51

- 11 - CLARKE N.A., STEVENSON R.E., et
KABLER P.W.
The inactivation of purified
type 3 adenovirus in water by chlorine
Am. J. Hyg. 1956 vol. 64 pp. 314-319
- 12 - COCKBURN T.A.
Epidemic of conjunctivitis in Colo-
rado : associated with pharyngitis,
muscle pain and pyrexia
Amer. J. Ophth. 1953 vol. 36
pp. 1534-1539
- 13 - COCKBURN T.A., ROWE W.P. et HUEBNER R.J.
Relationship of the 1951 Greeley,
Colorado, outbreak of conjunctivitis
and pharyngitis to type 3 APC virus
infection
Am. J. Hyg. 1956 vol. 63 pp. 250-
253 11
- 14 - Commission on Acute Respiratory Diseases
Acute respiratory diseases among new
recruits
Amer. J. Publ. Hlth 1946 vol. 36
pp. 439-450
- 15 - Commission on Acute Respiratory Diseases
Experimental Transmission of Minor
Respiratory Illness to human
volunteers by filter-passing agents;
I Demonstration of two types of
illness characterized by long and
short incubations and different
clinical features ; II Immunity
on reinoculation with Agents from
the two types of minor respiratory
illness and from primary atypical
pneumonia
J. Clin. Investigation 1947 vol. 26
pp. 957-982

- 16 - DERRICK E.H.
Swinning Bath Conjunctivitis with
a Report of 3 Probable Cases and a
Note on its Epidemiology
M.J. Australia 1943 vol. 2 pp. 334-36
- 17 - DINGLE J.H., GINSBERG H.S., BADGER G.F.
JORDAN W.S.J. et KATZ S.
Evidence for the specific etiology
of "acute respiratory disease (ARD)"
Trans. Assoc. Am. Physicians 1954
vol. 67 pp. 149-154
- 18 - DINGLE J.H. et FELLER A.E.
Non influenzal viral infections of
the respiratory tract
New Engl. J. Med. 1956 vol. 254
pp. 465-471
- 19 - ENDERS J.F.
Bovine amniotic fluid as tissue
culture medium in cultivation of
poliomyelitis and other viruses
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.
1953 vol. 82 pp. 100-105
- 20 - ENDERS J.F., BELL J.A., DINGLE J.H.,
FRANCIS T. jr, HILLEMAN M.R.,
HUEBNER R.J. et PAYNE A.M.M.
Adenoviruses : group name proposed
for new respiratory tract viruses
Science 1956 vol. 124 pp. 119-120
- 21 - EVANS A.S. et MORSE H.
The association of APC viruses with
respiratory illness in a student
population
J. Lab. Clin. Med. 1955 vol. 46
pp. 812-813

- 22 - GINSBERG H.S., GOLD E., JORDAN W.S. Jr,
KATZ S., BADGER G.F. et DINGLE J.H.
Relation of new respiratory agents to
acute respiratory diseases
Am. J. Pub. Health 1955 vol. 45
pp. 915-922
- 23 - GINSBERG H.S., BADGER O.F., DINGLE J.H.,
JORDAN W.A. Jr, KATZ S.
Etiologic Relationship of the RI 67
Agent to Acute Respiratory Disease
(ARD)
J. Clin. Investigation 1955 vol. 34
p. 820
- 25 - GINSBERG H.S.
Characteristics of the new respira-
tory viruses (adenoviruses) I Qualita-
tive and quantitative aspects of
the neutralization
J. Immunol. 1956 vol. 77 pp. 271-78
28
- 26 - GINSBERG H.S.
Charactéristiques of the new respira-
tory viruses (adenoviruses)
II Stability to temperature and pH
alterations
Proc. Soc. exp. biol. (N.Y.) 1956
vol. 93 pp. 48-52 25
- 27 - R. GLANDER G.A.V. HARNACK, H. LIPPELT
Ein durch das APC-Virus hervorgerufene
Epidemie.
Dtsch. Med. Wsch. 1956 vol. 81/2
pp. 1147-1149
- 28 - GNESH G.M., WHITNEY E. et DALLDORF G.
A serologic survey of influenza and
APC virus infections
Am. J. publ. Hlth. 1956 vol. 46
pp. 1325-1328

- 29 - HARTFORD C.G., HAMLIN A., PARKER E.
et von RAVENS WAAY T.
Electron microscopy of He La cells
infected with adenoviruses
J. Exp. Med. 1956 vol. 104 pp. 443-
454 59
- 30 - HARTFORD C.G., HAMLIN A., PARKER E.
Electron microscopy of He La cells
infected with ARD virus
Bact. Proc. 1955 p. 64
- 31 - HARTLEY J.W., HUEBNER R.J., ROWE W.P.
Serial propagation of adenoviruses
(APC) in monkey kidney tissue cul-
tures
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 1956
vol. 92 pp. 667-669
- 32 - HILLEMANN M.R. et WERNER J.H.
Recovery of new agent from patients
with acute respiratory illness
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1954
vol. 85 pp. 183-188
- 33 - HILLEMANN M.R., WERNER J.H., DASCOMB H.E.
et BUTLER R.L.
Epidemiologic investigations with
respiratory diseases virus RI 67
Amer. J. publ. Hlth 1955 vol. 45
pp. 203-210
- 34 - HILLEMANN M.R., WERNER J.H., ADAIR C.V.
et DREISBACH A.R.
Outbreak of acute respiratory illness
caused by RI 67 and influenza A
viruses, Fort Leonard Wood 1952-53
Am. J. Hyg. 1955 vol. 61 p. 163
- 35 - HILLEMANN M.R., WERNER J.H., DASCOMB H.E.
BUTLER R.L. et STEWART M.T.
Epidemiology of RI 67 group respira-
tory infections in recruit population
Am. J. Hyg. 1955 vol. 62 pp. 29-42

- 36 - HILLEMAN M.R., WERNER J.H., STEWART M.P.
Antigenic variation among RI 67
Group Viruses Diagnostic problems
Fed. Proc. année 1955 vol. 14
pp. 465-466
- 37 - HILLEMAN M.R., TOUMISIS A.J., WERNER J.H.
Biophysical properties of respiratory
disease virus RI 67
Bact. Proc. 1955 p. 61
- 38 - HILLEMAN M.R., TOUMISIS A.J. et
WERNER J.H.
Biophysical characterization of the
RI (RI 67) viruses
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 1955
vol. 89 pp. 587-593
- 39 - HILLEMAN M.R., WERNER J.H. et
STEWART M.T.
Grouping and occurrence of RI (proto-
type RI 67) viruses
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 1955
vol. 90 555-562 20
- 40 - HILLEMAN M.R., STALLONES R.A.
GAULD R.L., WARFIELD M.S. et
ANDERSON S.A.
Prevention of acute respiratory
illness in recruits by adenovirus
(RI, APC, ARD) vaccine
Proc. Soc. exp. biol. (N.Y.)
1956 vol. 92 pp. 377-383 20 réf.
- 41 - HILLEMAN M.R., WARFIELD M.S.,
ANDERSON S.A. et WERNER J.H.
Adenovirus (RI, APC, ARD) vaccine
for prevention of acute respiratory
illness I Vaccine development
J. Amer. med. Ass. 1957 vol. 163
p. 4 - 9

42 - HUEBNER R.J.

Studies in virus diseases, human
and animal : guidance criteria
Publ. Health Rep. 1954 vol. 69
p. 183

43 - HUEBNER R.J., ROWE W.P., WARD T.G.,
PARROTT R.H., BELL J.A.

Adenoidal-pharyngeal conjunctival
agents ; a newly recognized group
of common respiratory system viruses
New England Jour. Med. 1954 vol. 251
pp. 1077-1086

44 - HUEBNER R.J., BELL J.A., ROWE W.P.,
WARD T.G., SUSKIND R.G., HARTLEY J.W.
et PAFENBARGER R.S.Jr

Studies of adenoidal-pharyngeal-
conjunctival vaccines in volunteers
J. Amer. Med. Assoc. 1955 vol. 159
pp. 986-989

45 - HULL R.N., MINNER J.R., SMITH J.W.
non publié

(cité par ROWE, HUEBNER, HARTLEY
in Additional serotypes of APC
virus group-

46 - JAWETZ E., KIMURA S., NICHOLAS A.N.,
THYGESON P., HANNA L.

New type of APC virus from epide-
mic keratoconjunctivitis
Science 1955 vol. 122 p. 1190

47 - JAWETZ E., KIMURA S.J., HANNA L.
COLEMAN V.R., THYGESON P. et
NICHOLAS A.

Am. J. Ophth. 1955 vol. 40 p. 200

- 48 - JAWETZ E., KIMURA S., THYGESON P.,
COLEMAN V.R., HANNA L.
Viruses isolated from patients with
epidemic kerato-conjunctivitis
Bact. Proc. 1955 p. 75
- 49 - JAWETZ E., THYGESON P., HANNA L.
NICHOLAS A. et KIMURA S.
Antibodies to AFC virus type 8 in
epidemic keratoconjunctivitis
Proc Soc. exp. biol. (N.Y.) 1956
vol. 92 pp. 91-95
- 50 - JORDAN W.S. Jr, BADGER G.F., DINGLE J.H.
GINSBERG H.S. et KATZ S.
The serologic epidemiology of respi-
ratory agents isolated in He La
cells cultures
J. Lab. Clin. Med. 1954 vol. 44
p. 816
- 51 - JORDAN W.S. Jr, BADGER G.F., CURTISS C.
DINGLE J.H., GINSBERG H.S., GOLD E.
A study of illness in a group of
Cleveland families
X The occurrence of adenovirus infec-
tions
Am. J. Hyg. 1956 vol. 64 pp. 336-348
- 52 - KJELLEN L.
Studies on an unidentified group of
cytopathic agents
Arch. ges. Virusforsch. 1955
vol. 6 pp. 45-59
- 53 - KJELLEN L.
Studies on adenoviruses (APC, RI,
ARD) in tissue culture : correla-
tion between the amount of virus
inoculated and the time needed for
production of cellular degeneration
Arch. ges. Virusforsch. 1956
vol. 7 pp. 110-119

- 54 - LEPINE P., CHANY Ch. et ROBBE-FOSSAT F.
Etude des virus APC (adénovirus)
I Isolement en France de virus du
type APC (souches P₃₂ et P₄₄)
Ann. Inst. Pasteur 1956 vol. 91
pp. 607-613 9
- 55 - LELONG P., LEPINE P., ALISON F.,
SADGE, LE TAN et CHANY Ch.
La pneumonie à virus du groupe APC
chez le nourrisson. Isolement du
virus. Les lésions anatomo-histolo-
giques
Arch. fr. Péd. 1956 vol. 13 pp. 1092-
1093
- 56 - LOW B.W. et PINNOCK P.R.
The packing structure of cristalline
APC - RI virus
J. biophys. biochem. cytol. 1956
vol. 2 pp. 483-486
- 57 - MORGAN J.F., MORTON M.J. and PARKER R.C.
Nutrition of animal cells in tissue
cultures. I Initial studies on a
synthetic medium
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1950
vol. 73 1-8
- 58 - MORGAN C., HOWE C., ROSE H.M.,
et MOORE D.H.
Structure and development of viruses
observed in the electron microscope
IV Viruses of the RI APC groups
J. Biophysic. biochem. Cytol. 1956
vol. 2 pp. 351-360
- 59 - MUMME C.
Zur APC-virusinfektion. Beobachtun-
gen während der Hamburger Epidemie
1955, und einer Familieninfektion
in Altona 1956
Med. Klin. 1956 vol. 51 pp. 453-
456 (6)

- 60 - NEVA F.A. et ENDERS J.F.
Isolation of a cytopathogenic agent
from an infant with a disease in
certain respects resembling roseola
infantum
Journ. Immunol. 1954 vol. 72 pp. 315-
321
- 61 - ORMSBY H.L., FOWLE A.M.C., et
COCKERAM A.
Relation of epidemic keratoconjunc-
tivitis to the adenoidal-pharyngeal-
conjunctival (APC) virus syndrome
Canad. Med. Ass'n Jour. 1955
vol. 73 pp. 710-713
- 62 - PARROTT R.H., ROWE W.P., HUEBNER R.S.,
BERNTON H.W., McCULLOUGH N.B.
Outbreak of febrile pharyngitis and
conjunctivitis associated with type 3
APC virus infection
New England Jour. Med. 1954 vol. 251
pp. 1087-1090
- 63 - PARROTT R.H.
Clinical features of infection with
APC (adenoidal-pharyngeal-conjuncti-
val) viruses (pharyngo-conjunctival
fever)
Am. J. Dis. Child 1957 vol. 93 p. 74
- 64 - PELON W., MOGABGAB W.J., PHILLIPS I.A.,
et PIERCE W.E.
Cytopathogenic agent isolated from
recruits with mild respiratory
illnesses
Bact. Proc. 1956 p. 67
- 65 - PENNACCHIO L. et DANESE G.
Contributo clinico alla polmonite
da adenovirus
Policlinico (Sez. prat.) 1956
vol. 63 pp. 1633-1651 36

- 66 - PEREIRA, H.G.
Typing of adenoidal-pharyngeal-con-
junctival (APC) viruses by complement
fixation
J. Gen. Microbiol. 1956 vol. 14 p. V
- 67 - PRICE W.H.
The epidemic climate
Publ. Health Rep. 1956 vol. 71
pp. 125-138
- 68 - RIGHTSEL W.A., DAU E. et McLEAN I.W.Jr
Experimental polyvalent APC virus
vaccines
Bact. Proc. 1956 p. 68
- 69 - RODEN A.T., PEREIRA H.G., CHAPRONIERE D.M.
Infection of volunteers by a virus
(APC type I) isolated from human
adenoid tissue
Lancet 1956 vol. 271 pp. 592-596
- 70 - ROLLI G., CURCIO F. et FILIPPI P.
Primi isolatamenti di virus adenoi-
deo-faringo -congiuntivali (APC)
in Italia
Riv. ist. sieroter. ital. 1956
vol. 31 pp. 325-327 12
- 71 - ROWE W.P., HUEBNER R.J., GILMORE L.K.,
PARROTT R.H. et WARD T.G.
Isolation of a cytopathogenic agent
from human adenoids undergoing
spontaneous degeneration in tissue
culture
Proc. Soc. Exp. Biol. 1953 vol. 84
pp. 570-574 3
- 72 - ROWE W.P., HUEBNER R.J., HARTLEY J.W.,
WARD T.G., PARROTT R.H.
Studies of the adenoidal-pharyngeal-
conjunctival (APC) group of viruses
Amer. J. Hyg. 1955 vol. 61 pp. 197-
218

- 73 - ROWE W.P., SEAL J.R., HUEBNER R.J. et coll.
A study of the role of adenoviruses in acute respiratory infections in a navy recruits population
Am. J. Hyg. 1956 vol. 64 pp. 211-19
- 74 - ROWE W.P., HARTLEY J.W., HUEBNER R.J.
Additional serotypes of the APC virus group
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1956 vol. 91 pp. 260-262
- 75 - ROWE W.P., et HUEBNER R.J.
Present knowledge of the clinical significance of the adenoidal-pharyngeal-conjunctival group of viruses
Amer. J. trop. Med. Hyg. 1956 vol. 5 pp. 453-460 28 réf.
- 76 - ROWE W.P., HUEBNER R.J., COHEN G.J. et BOGAERT C.
non encore publié.
- 77 - ROWE W.P., HARTLEY J.W., WATERMAN S., TURNER H.C. et HUEBNER R.J.
Cytopathogenic agent resembling human salivary gland virus recovered from tissue cultures of human adenoids
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 1956 92 418
- 77b - SHERER W.F., SYVERTON J.T., GEY G.O.
Studies on the propagation in vitro of poliomyelitis viruses-IV Viral multiplication in a stable strain of human malignant epithelial cells (strain He La) derived from an epidermoid carcinoma of the cervix
Jour. Exper. Med. 1953 vol. 97 pp. 695-710

- 78 - SMITH R.R., HUEBNER R.J., ROWE W.P.
SCHATTEN W.E., THOMAS L.B.
Studies on the use of viruses in
treatment of carcinoma of the cervix
Non encore publié.
- 79 - SOBEL G., ARONSON B., ARONSON S. et
WALKER D.
Pharyngo-conjunctival fever. Report
of an epidemic outbreak
A.J.Dis. Child. 1956 vol. 92 pp. 596-
612
- 80 - SOHIER R.
Sur la présence en France des infec-
tions dues aux virus du groupe APC
(Rowe et Huebner) ou RI 67 (Hilleman)
Ann. Inst. Pasteur 1956 vol. 90
pp. 222-226
- 81 - SOHIER R.
Infections à virus dits APC en
France (A propos de deux petits
foyers récents, succédant à la grippe
B)
Bull. Acad. nat. Méd. (Paris) 1956
vol. 140 pp. 101-105 7
- 82 - SOLOVIEV V.D.
Nouvelles données sur l'étiologie
de la grippe et autres infections
respiratoires
J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.
(russe) 1956 vol. 8 pp. 3-8
- 83 - SOUTHAM G.M., HILLEMAN M.R. et
WERNER J.H.
Pathogenicity and oncolytic capacity
of RI virus strain RI 67 in man
J. Lab. clin. Med. 1956
vol. 47 pp. 573-582 19

- 84 - STALLONES R.A., HILLEMAN M.R.,
GAULD R.L. et coll.
Adenovirus (RI, APC, ARD) vaccine
for prevention of acute respiratory
illness II Field evaluation
J. Amer. Med. Ass. année 1957
vol. 163 pp. 9-15
- 85 - STUART HARRIS C.H.
Influenza and other virus infections
of the respiratory tract
by Edward Arnold & Co London 1953
- 86 - TOURNIER P.
Les virus adéno-pharyngo-conjoncti-
vaux. Un nouveau groupe de virus
pathogènes pour l'homme
Presse Médicale 1956 vol. 64 pp. 1266-
1269
- 87 - TYRREL D.A. Jr, BALDUCCI D. et
ZAIMAN T.E.
Acute infections of the respiratory
tract and the adenovirus
Lancet 1956 vol. 271 pp. 1326-1330
- 88 - VIVELLO, ZINTZ R. et DEIBEL R.
Die epidemische Keratokonjunktivitis.
Eine APC Virus Infektion ?
Dtsch. Med. Wschr. 1957 vol. 82
pp. 100-102
- 89 - WARD T.G., HUEBNER R.J., ROWE W.P.,
RYAN R.W., BELL J.A.
Production of pharyngo-conjunctival
fever in human volunteers inoculated
with APC viruses
Science 1955 vol. 122 pp. 1086-1087
- 90 - WERNER G.H.
Virus en quête de maladies
Presse Médicale 1956 vol. 64
pp. 1859-1862

- 91 - WERNER G.H.
Complement fixing antibodies in
guinea pigs immunized with type 3
adenopharyngeo-conjunctival virus
J. Bact. 1956 vol. 72 pp. 568-569
- 92 - WESTWOOD M.A. et GEAR James
Respiratory Infections due to the
APC Group of Viruses (Adenovirus)
South A. Med. J. 1956 N° 42 vol. 30
pp. 1010 à 1013 10 réf.
- 93 - WINTER J.W. et SCHLESINGER R.W.
Observations on cytopathogenic
agents isolated from human tonsils
and adenoids
Bact. Proc. 1956 pp. 67-68
- 94 - YOUNGNER J.S., WARD E.N., SALK J.E.
Studies on poliomyelitis viruses in
cultures of Monkey testicular tissue.
I. Propagation of virus in rollon
tubes.
II. Differences among strains in
tissue culture infectivity with
preliminary data on the quantitative
of virus and antibody
Am. J. Hyg. 1952 vol. 55 pp. 291
- 95 - YOUNGNER J.S.
Monolayer tissue culture ; I Prepa-
ration and standardization of
suspensions of trypsin-dispersed
monkey kidney cells
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.
1954 vol. 85 pp. 202-205
- 96 - ZAIMAN E., BALDUCCI D., TYRRELL D.A.J.
APC viruses and respiratory diseases
in Northern England
Lancet 1955 vol. 269 p. 595

- 97 - The ARD Virus ?
Lancet 1954 vol. 266 pp. 867
- 98 - Study of new APC viruses from respiratory tract
Publ. Hlth Rep. (Wash) 1955 vol. 70
pp. 207-208
- 99 - The adenoviruses
Publ. J. Amer. Med. Assoc. 1957
vol. 163 pp. 40-41

SERMENT

--:--

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers Condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'Exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

--:--

